Der Einfluß von viskositätserhöhenden Substanzen auf den präepithelialen Diffusionswiderstand und die Resorption im Jejunum der Ratte in situ

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors
der Naturwissenschaften
der Fakultät für Chemie und Pharmazie
der Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen

vorgelegt von
Günter Holzheimer
aus Mettmann

1985

UNIV. LIBRARY

Der Einfluß von viskositätserhöhenden Substanzen auf den präepithelialen Diffusionswiderstand und die Resorption im Jejunum der Ratte in situ

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors
der Naturwissenschaften
der Fakultät für Chemie und Pharmazie
der Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen

vorgelegt von
Günter Holzheimer
aus Mettmann

1985

Tag der mündlichen Prüfung: 30. 10. 1985

Dekan: Prof. Dr. K.-A. Kovar

1. Berichterstatter: Prof. Dr. D. Winne
2. Berichterstatter: Prof. Dr. H. P. T. Ammon

Meinen Eltern

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546524_0001

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
EINLEITUNG	1
Fragestellung und allgemeiner Versuchsaufbau	2
METHODIK	4
A. Resorption aus dem Jejunum der Ratte in situ	4
I. Versuchstiere	4
II. Einmalige Perfusion eines Jejunumsegments	4
1. Übersicht des Versuchsaufbaus	4
2. Präparation der Jejunumschlinge	4
3. Bestimmung von in situ-Länge und -Umfang der perfundierten Jejunumschlinge	7
III. Einmalige Gabe der Modellsubstanzen ins Rattenjejunum	7
1. Übersicht des Versuchsaufbaus	7
2. Präparation der Jejunumschlinge	7
3. Messung des Wassernettofluxes in der abgebundenen Darmschlinge	8
IV. Bearbeitung der Daten	8
a. Durchblutung	8
b. Konzentration im Darmvenenblut und Perfusat	9
c. Erscheinensrate	9
d. in situ-Radius und -Fläche	9
e. Wassernettofluxbestimmung mit PEG 4000 im abgebundenen Darmsegment und Phenolrot in den Perfusionsversuchen	9
B. Bestimmung der Radioaktivität	11
C. Lösungen	12
D. Bestimmung der Diffusionskonstanten	13
E. Dialyse	16
F. Messung des kolloidosmotischen Drucks	16

G. Viskositätsmessung 17

H. Biometrische Auswertung 18
1. Darstellung der Ergebnisse 18
2. Vergleich zweier Versuchsgruppen 18
3. Varianzanalysen 18
4. Rangvarianzanalyse und Konkordanzkoeffizient 19
5. Regressionsanalyse 19
6. Modellanalyse 20

ERGEBNISSE

A. Einfluß von Hydrogelbildnern sowie erhöhtem intraluminalem Druck auf die Resorption im perfundierten Jejunum der Ratte 22
1. Einleitung und allgemeine Ergebnisse 22
2. Einfluß von Methylcellulose MH 300 auf die Antipyrinresorption bei Perfusion einer Darmschlinge 23
3. Der intraluminale Druck bei Perfusion einer Darmschlinge 28
4. Einfluß des intraluminalen Druckes auf die Antipyrinresorption 28
5. Einfluß einer Guarvorperfusion auf die Antipyrin- und α-Methyl-D-Glucosidresorption im Jejunum der Ratte 34
6. Zusammenfassung 37

B. Einfluß von hydrophilen Polymeren auf die Resorption im Jejunum der Ratte bei einmaliger Applikation 39
1. Einleitung und allgemeine Ergebnisse 39
2. Resorption aus Lösungen ohne Zusatz (Kontrollen) 40
3. Einfluß von organischen Hydrogelbildnern, Polyethylenglykol und Polyvinylpyrrolidon auf die Antipyrinresorption 40
4. Einfluß von Methylcellulose, Carboxymethylcellulose, Guar und Polyethylenglykol 35000 auf die Resorption von Benzoesäure, α-Methyl-D-Glucosid, Harnstoff und Benzylamin 50
5. Wassernettoflux 57

6. Modellanalyse 59
6.1 Einführung 59
6.2 Allgemeine Ergebnisse der Modellanalyse 62
6.3 Spezielle Ergebnisse der Modellanalyse 65
7. Zusammenfassung 66

C. Nebenuntersuchungen 75
1. Einfluß hydrophiler Polymere auf die Diffusionskonstante von Antipyrin, Benzoesäure, α-Methyl-D-Glucosid, Harnstoff und Benzylamin 75
2. Dialyse der Polymerlösungen 75
3. Kolloidosmotischer Druck der Hydrogelbildner 78
4. Viskosität der Polymerlösungen 78

DISKUSSION 80

1. Der Einfluß von Polymeren auf die intestinale Resorption bei Perfusion eines Darmsegmentes 80
2. Der Einfluß von Polymeren auf die intestinale Resorption bei einmaliger Applikation in eine abgebundene Darmschlinge 82
3. Der Einfluß einer zunächst substratfreien Grenzschicht auf die intestinale Resorption 83
4. Bindung der Substrate an Polymere 84
5. Kolloidosmotischer Druck der Polymere und ihr Einfluß auf den intestinalen Wassernettoflux 85
6. Einfluß der Polymere auf die Diffusionskonstanten von Nichtpolymeren 85
7. Modellanalyse 86
8. Synopsis 88

ANHANG 90

1. Ableitungen der Gleichungen für die Resorptionsrate 90
   1.1 Modell A 90
   1.2 Modell B 92
2. Tabellen 94
3. Chemikalien 130
4. Lösungen 131
5. Geräte 133

LITERATURVERZEICHNIS 135

ZUSAMMENFASSUNG 146

Durch das Erscheinen des Präparates Glucotard® (Inhaltsstoff Guar) auf dem Arzneimittelmarkt wurde ein neues Wirkprinzip in die adiuvante Therapie des Diabetes mellitus eingeführt (13). Die nicht verdaulichen, quellbaren Polysaccharide und andere Stoffe mit Polymerstruktur (sogenannte "dietary fibres") vermindern die postprandiale Hyperglykämie. Die gleichzeitige Ingestion von Testmahlzeiten und Polymeren führt beim Menschen zur Abflachung des zeitlichen Verlaufes der Blutglukose- und Seruminsulinkonzentration (5,12,34,46,47,48, 49,50,51,61,71,94,111) sowie zur Abnahme des Plasmagehalts von "gastric inhibitory polypeptide" und "glucagon-like-immunoreactivity" (12,71). Auch ist der Paracetamol- und Sulfonylharnstoffspiegel erniedrigt (43,84) und die Urinausscheidung von Nitrofurantoin (83,87) und Xylose (34,56) nach oraler Gabe verzögert. Nach Einnahme von Digoxin wird dessen Blutspiegel durch die gleichzeitige Gabe von Guar nicht verändert (63). Die Urinausscheidung von oral appliziertem Riboflavin wird durch Beigabe von Na-Alginat erhöht (65), während bei Methylcellulose Riboflavin und Thiamin in unveränderter Menge im Urin erscheinen (41). Eine verlängerte Magenverweildauer (14,20,43,60) ist ursächlich am verzögerten Anstieg des Blutglukosespiegels beteiligt, kann aber nicht die alleinige Ursache sein, da auch ohne Verlängerung der Magenentleerungszeit die Wirkung auf den Blutglukosespiegel erhalten bleibt (5,6,9,62). Wie durch zahlreiche Untersuchungen an Mensch und Tier in vivo und in vitro belegt ist, hat die Viskositätserhöhung des Darminhaltes durch die Polymere eine Reduktion der Resorptionsrate zur Folge, die auf eine Erhöhung der Grenzschichtdicke ("effective unstirred layer thickness") an der Mukosaoberfläche zurückgeführt wird (7,8,9,12,20,27,28,35,52,53).

Bei Permeationsuntersuchungen führt die nicht durchmischte Grenzschicht an der Membran (unstirred layer, boundary layer) zu zusätzlichen Konzentrationsgradienten mit Auswirkungen auf die Permeationsrate und die elektrischen Phänomene, Übersicht bei Barry und Diamond (4). Im Darm kommt es zur Resorptionsverminderung bzw. -verzögerung; die Permeabilitätskoeffizienten werden unter- und die Michaeliskonstanten überbestimmt, die "pH-Absorptionskurven" sind verschoben, Übersicht bei Winne (107). Da bei abgebundener Darmschlinge und Perfusion eines Darmsegments mit laminarer Strömung eine unterscheidbare "Grenzschicht" nicht existiert, ist dafür der allgemeinere Ausdruck "präepithelialer Diffusionswiderstand" vorgeschlagen worden (107). Dieser Diffusionswiderstand hängt von der intraluminalen Diffusionsgeschwindigkeit (Diffusionskonstante) und dem Diffusionsweg, ggf. dem intraluminalen Radius, ab. Gewöhnlich wird der präepitheliale Diffusionswiderstand anschaulich mit der effektiven Grenzschichtdicke ("effective unstirred

layer thickness") charakterisiert. Sie beträgt im perfundierten Jejunum der Ratte 400 - 500 µm (21,44,102,105,110) und des Menschen 620 - 630 µm (76,77).

Fragestellung und allgemeiner Versuchsaufbau

In zweierlei Hinsicht wurden die Untersuchungen dieser Arbeit durchgeführt:
1. Für die praktischen Belange sollte die Rolle des präepithelialen Widerstands im Darmlumen bei Polymerzusatz für die Resorption in vivo unter Einbeziehung einfacher Pharmaka genauer geklärt werden.
2. sollten die aus theoretischen Modellen abgeleiteten Gleichungen (107) für den Einfluß des präepithelialen Diffusionswiderstands auf die intestinale Resorption experimentell durch Variation der luminalen Viskosität mittels eines Polymerzusatzes überprüft werden. Dieses erforderte die parallele Messung der Diffusionskonstanten in den verschiedenen Polymerlösungen, was bisher unterblieben war.

Bei narkotisierten, männlichen Ratten wurde die Erscheinensrate verschiedener radioaktiv markierter Substrate im Venenblut des Jejunums gemessen. Die Substrate waren so ausgewählt worden, daß ein möglichst breites Spektrum von Eigenschaften erfaßt wurde: Antipyrin (wenig dissoziiert, schwache Base), Benzoesäure (bei pH = 6,8 fast völlig dissoziierte organische Säure), Benzylamin (bei pH = 6,8 fast völlig dissoziierte organische Base), Harnstoff (kleines, nicht ionisiertes, schnell diffundierendes, hydrophiles Molekül) und das aktiv resorbierte (99), im Darm nicht metabolisierte, hydrophile α-Methyl-D-Glucosid. Als Polymere sind folgende Substanzen ausgesucht worden: Methylcellulose (nicht ionisches, partialsynthetisches Polysaccharid), Guar (nicht ionisches, natürliches Polysaccharid aus der indischen Büschelbohne, Cyamopsis tetragonoloba), Carboxymethylcellulose-Natrium (ionisches, partialsynthetisches Polysaccharid), Na-Alginat (ionisches, natürliches Polysaccharid aus Phaeophyceen-Arten). Zum Vergleich wurden Polyethylenglykol 35000 (polymerisiertes Ethylenglykol) und Polyvinylpyrrolidon (synthetisches Polymerisat) in die Untersuchungen einbezogen.

In den ersten Resorptionsversuchen wurde eine Jejunumschlinge einmalig perfundiert. Da mit ansteigendem Methylcellulosegehalt der Perfusionslösung eine Dehnung der Darmwand mit Vergrößerung der Kontaktfläche und Erhöhung der Antipyrinresorptionsrate auftrat, wurde diese Technik nur

in einigen ergänzenden Versuchen zur Klärung des Mechanismus beibehalten. Die Wirkung einer zunächst substratfreien, viskösen Grenzschicht auf die intestinale Resorption wurde in Anlehnung an Blackburn und Johnson (7,8) ebenfalls mit der Perfusionsmethode untersucht. Um eine im Rahmen der biologischen Streuung konstante Kontaktfläche zwischen luminaler Lösung und Schleimhaut zu erzielen, wurde in den weiteren Versuchen die Technik der einmaligen Applikation eines Volumens in eine abgebundene Jejunumschlinge angewendet. Bei dieser Versuchsanordnung wird außerdem der intraluminale Radius bzw. Diffusionsweg durch den Polymerzusatz nicht verändert. Nur sein Einfluß auf die Diffusionskonstante wirkt sich auf die Resorption aus. In Parallelexperimenten wurde der Einfluß der Polymere auf den Wassernettoflux im Darm geprüft.

Die Resorptionsversuche wurden ergänzt durch die Messung der Diffusionskonstanten der Substrate in den Perfusions- und Injektionslösungen, die Bestimmung der Viskosität und des kolloidosmotischen Drucks.

Die ausführliche tabellarische Dokumentation der experimentellen Daten ist im Anhang zu finden, während die graphischen Darstellungen zur besseren Anschauung im Textteil verblieben sind.

METHODIK

A. Resorption aus dem Jejunum der Ratte in situ

I. Versuchstiere:

Sämtliche Versuche wurden an männlichen Ratten (Stamm Wistar FW 49 Biberach, institutseigene Weiterzucht), Gewicht 357,0 ± 0,9 (s = 21,0) g , N = 553, durchgeführt. Die Tiere wurden mit Trockenfutter Altromin Nr.13244 und Wasser ad libitum ernährt. 16 - 24 Stunden vor Beginn des Versuchs wurde das Futter unter Belassung von Wasser entzogen.

II. Einmalige Perfusion eines Jejunumsegments

1. Übersicht des Versuchsaufbaus

Bei Ratten in Urethannarkose wurde eine Jejunumschlinge mit einer substrathaltigen Pufferlösung einmalig perfundiert und die Erscheinensrate des Substrates im jejunalen Darmvenenblut bestimmt. Die Variation des intraluminalen Drucks erfolgte durch Erhöhung des Niveaus der Auslaufkanüle. Die speziellen Versuchsanordnungen werden zum besseren Verständnis der Ergebnisse zusammen mit diesen erläutert.

2. Präparation der Jejunumschlinge

Die Ratten wurden gewogen, mit einer 25%igen Urethanlösung i.p. (4.5 ml/kg KG) narkotisiert und auf einem geheizten (38°) Präpariertisch fixiert. Nach Eröffnung des Bauchraumes durch einen Schnitt längs der Linea alba wurde der Dünndarm vorgelagert, auf pathologische Veränderungen überprüft und mit einem Zellstofftupfer (angefeuchtet mit isotonischer NaCl-Lösung) abgedeckt. Am Hals wurden nach einem Mittelschnitt die linke Arteria carotis sowie die rechte Vena jugularis freipräpariert und mit jeweils 2 Fäden unterschlungen. Um eine zusätzliche Beatmung (36/min) zu ermöglichen, wurde in die freigelegte Trachea eine Kanüle eingebunden. Den Halsbereich bedeckte ebenfalls ein feuchter Zellstofftupfer.

Für die folgende Präparation wurde eine ausgewählte Jejunumschlinge auf eine bis an die Bauchdecke herangeführte Wärmeplatte (38°) gelagert.

Die zur Darmschlinge gehörende Vena jejunalis wurde an der Einmündung in die Vena mesenterica superior mit einem Doppelfaden unterschlungen. In das Jejunumsegment wurde proximal und distal jeweils eine Polyethylenkanüle derart eingebunden, daß die Gefäßverbindungen zu den Nachbarschlingen unterbrochen wurde und das venöse Blut ausschließlich über die unterschlungene Vena jejunalis abfloß. Die proximale Kanüle war direkt am unteren Ende eines "fingerförmigen" Temperiermantels aus Messing fixiert, an dessen oberem Ende sich 4 Einlaufstutzen (für Luft, Vorperfusionslösung, 2 Perfusionslösungen) befanden (Abb.1). Zur Entfernung möglicher Kot- und Chymusreste wurde das Lumen mit NaCl-Lösung durchgespült. Während des gesamten Versuchs bedeckte angefeuchteter Zellstoff die Schlinge, um diese vor Feuchtigkeitsverlust zu schützen. Die Feinregulierung der Temperatur der Ratte und der vorgelagerten Darmschlinge erfolgte durch eine Abstandsänderung der über dem Präparationstisch angebrachten Glühlampe. Nach Injektion von 0,1 ml isotonischer Heparinlösung (2 mg Heparin / 0,1 ml NaCl-Lösung) wurde ein PVC-Schlauch für die spätere Blutinfusion in die rechte Vena jugularis eingebunden. Die in die Arteria carotis eingebundene Polyethylenkanüle war über einen PVC-Schlauch mit einem Quecksilbermanometer (15) verbunden. Der damit gemessene Blutdruck wurde auf einem Rußkymographen registriert.

Nach Beginn der luminalen Perfusion wurde die Vena jejunalis nach proximal abgebunden, distal davon mit einer Kanüle Nr. 12 punktiert und diese mit einer Ligatur fixiert. Der Spritzenansatz der Kanüle war entfernt und durch einen dünnen PVC-Schlauch ersetzt worden. Das Blut konnte auf diesem Weg aus der Vene abfließen und, über einen Tropfenzähler geleitet, in Bechergläsern aufgefangen und gewogen werden. Die Registrierung der Tropfenzahl pro Minute erfolgte ebenfalls auf dem Kymographen. Der Blutverlust wurde durch eine Infusion frischen Bluts in die Vena jugularis kompensiert. Dieses wurde unmittelbar vor Beginn des Versuchs anderen, narkotisierten und heparinisierten Ratten aus der Arteria carotis entnommen. Die Blutinfusion wurde so reguliert, daß eine konstante Darmdurchblutung erreicht wurde: 12 Tropfen/min. bei einer 5 cm langen Schlinge.

Nach Beendigung des Versuches wurden die nichtperfundierten Enden der Darmschlingen abgetrennt; der perfundierte Anteil wurde vom Mesenterium gelöst, die Länge bestimmt, in NaCl-Lösung gewaschen, mit Filterpapier abgetupft und gewogen (= Darmfeuchtgewicht). Die Präparationsdauer bis zum Beginn der Vorperfusion betrug ca. 35 Minuten.

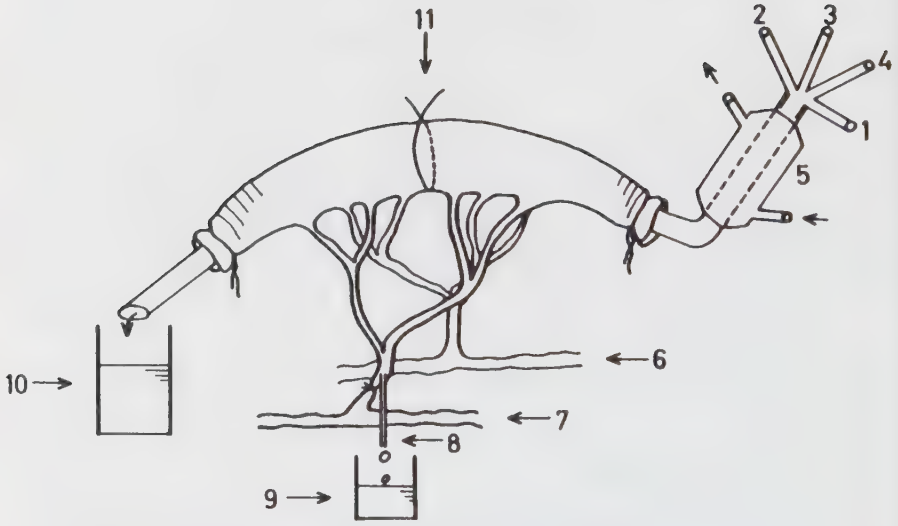


Abb.1: Schema des Versuchsaufbaus für die intestinale Resorption.

1: Zufuhr von Luft
2: Perfusionslösung ohne Substrat
3: Perfusionslösung mit Substrat
4: viskoser Perfusionslösung mit Substrat
5: Temperiermantel
6: Arteria mesenterica superior
7: Vena mesenterica superior
8: Kanüle in Jejunalvene
9: Darmvenenblut
10: Perfusat
11: Faden zur Bestimmung des Darmumfangs

3. Bestimmung von in situ-Länge und -Umfang der perfundierten Darmschlinge

Zur Abschätzung der Größe der resorbierenden Schleimhautoberfläche (siehe dazu Abschnitt A IV d) war eine Längen- sowie Umfangsmessung des Dünndarmabschnittes notwendig. Diese erfolgte während des Versuchs in situ. Ein mit NaCl-Lösung benetzter Faden wurde auf das Darmsegment gelegt und jeweils auf Höhe der Kanüleneinbindungsstellen abgeschnitten. Es wurde beachtet, daß der Faden der Darmkurvatur folgte. Die Länge wurde anschließend mit Hilfe eines Lineals gemessen. Zur Bestimmung des Umfangs wurde ebenfalls ein Faden benutzt, welcher durch ein Loch im Mesenterium um den Darmabschnitt gelegt war. Der Faden wurde durch einen einfachen Knoten fixiert, der eine dichte Auflage auf der Darmoberfläche ohne Einschnürung gewährleistete. Nach Durchtrennung des Knotens wurde der Faden entfernt und dessen Länge gemessen.

III. Einmalige Gabe der Modellsubstanzen ins Rattenjejunum

1. Übersicht des Versuchsaufbaus

Bei Ratten in Urethannarkose wurden 0,5 ml einer substrathaltigen Pufferlösung in eine Jejunumschlinge injiziert und anschließend die Erscheinensrate im Darmvenenblut bestimmt.

2. Präparation der Jejunumschlinge

An dieser Stelle werden nur die Abweichungen zu der in Kapitel A II 2 beschriebenen Methodik aufgeführt. Die ausgewählte Schlinge des Jejunums wurde nach Ausstreifen eventuell vorhandenen Darminhaltes proximal sowie distal von den Nachbarsegmenten durch je eine Ligatur getrennt. Ein weiterer Faden wurde am Anfang des Segments (proximal) gelegt. Nach Einbinden der Kanüle in die Vena jejunalis wurde der Darm zwischen proximaler Abbindestelle und gelegtem Faden eröffnet und ein Polyethylenschlauch eingebunden. Nach Erreichen einer konstanten Durchblutung wurden etwa 0,5 ml der substrathaltigen Pufferlösung durch den Schlauch ins Darmlumen injiziert. Der Schlauch wurde daraufhin aus dem Darmlumen gezogen und das Segment mittels des gelegten Fadens verschlossen. Das exakte Volumen der injizierten Flüssigkeit folgte aus einer Differenzwägung der Spritze. Am Versuchsende wurde das Darmsegment herausgetrennt, mit einem kleinen Schnitt eröffnet und der Darminhalt herausgestreift. Nach völliger Eröffnung des Segments wurde

dieses in NaCl-Lösung gespült, mit Filtrierpapier abgetupft und gewogen.

3. Messung des Wassernettofluxes in der abgebundenen Darmschlinge

In das Lumen eines vorgelagerten Jejunumsegments wurden nach Ausstreifen eventuell vorhandenen Darminhaltes 0,5 ml Pufferlösung 2 injiziert. Diese enthielt ^{14}C-Polyethylenglykol als Markierungssubstanz (88) und die verschiedenen hochmolekularen Zusätze. In diesen Versuchen unterblieb die Punktion der Vena jejunalis, die Blutinfusion, die Blutdruckmessung und Beatmung. Nach 30 min wurde der Darmabschnitt herausgetrennt und der Inhalt des Darmlumens durch vorsichtiges Auspressen in ein Reagenzglas überführt. Nach Zentrifugation wurden 100 µl für die Messung der Radioaktivität verwendet. Aus diesem Meßwert wurde die Endkonzentration des PEG bestimmt. Die Anfangskonzentration ergab sich aus einer Szintillationszählung der Ausgangslösung (siehe Abschnitt A IV e). Um einen durch die nach Ausstreifen des Darmsegmentes im Lumen anwesende Flüssigkeitsmenge vorgetäuschten Wassernettoflux zu erfassen, wurden Versuche an je 2 Tieren durchgeführt, bei denen unmittelbar nach Injektion die Lösung dem Darmlumen wieder entnommen wurde. Der sonstige Versuchsaufbau entspricht dem oben beschriebenen.

IV. Bearbeitung der Daten

a. Durchblutung

Die Darmdurchblutung wurde durch Wägung der aus der Vena jejunalis abfließenden Blutmenge bestimmt und nach Einbeziehung der Dichte (89) auf das Darmfeuchtgewicht und die Zeit bezogen:

$$\text{Durchblutung} = \frac{\text{Blutmenge (g)}}{1{,}054\ (\text{g/ml}) \times \text{Zeit (min)} \times \text{Darmg.(g)}}$$

Die Durchblutung wird in ml $min^{-1}g^{-1}$ angegeben.

b. Konzentration im Darmvenenblut und Perfusat

Mit Hilfe der spezifischen Aktivität der Perfusions- und Injektionslösungen wurde aus der Aktivität (Bq/ml) die molare Konzentration errechnet. Die Angaben erfolgen in der Einheit nmol/ml.

c. Erscheinensrate

Die Erscheinensrate ist definiert als Produkt aus Durchblutung (ml $min^{-1}g^{-1}$) und Konzentration der Modellsubstanz im Darmvenenblut (nmol/ml). Somit hat die Erscheinensrate die Einheit nmol $min^{-1}g^{-1}$.

d. In situ-Radius und -Fläche

Der in situ gemessene Außenumfang (cm) eines Darmsegmentes multipliziert mit dem Faktor 0,83 ergibt den Innenumfang. Daraus folgt mittels der Kreisgleichung $U = 2\ R\ \pi$ der intraluminale Radius R, in situ-Radius genannt. Der Faktor 0,83 (Verhältnis Innen- zu Außenumfang) war früher aus den Querschnitten in situ fixierter Jejunumschlingen ermittelt worden (108). Die in situ-Fläche folgt aus in situ-Radius und der in situ-Länge: $F = R^2\ \pi\ l$ und ist die Mantelfläche eines die Zottenspitzen intraluminal berührenden Zylinders und kann als untere Grenze (wegen der villösen Struktur) für die effektiv resorbierende Mukosaoberfläche angesehen werden; siehe dazu Winne (104).

e. Wassernettofluxbestimmung mit PEG 4000 im abgebundenen Darmsegment und Phenolrot in den Perfusionsversuchen

Der Wassernettoflux ist die Differenz zwischen Anfangsvolumen V_0 (ml) und Endvolumen V_Z (ml), bezogen auf das Darmfeuchtgewicht G (mg) und die Zeit t (min). Das Endvolumen folgt aus der Konzentrationsänderung des PEG 4000, das nicht oder kaum resorbiert wird (daher $V_0 \times C_0 = V_Z \times C_Z$):

Gl. (1) $$\phi = \frac{V_0 - V_Z}{G\ t} = \frac{V_0\ (1 - C_0/C_Z)}{G\ t}$$

Analog wurde bei den Perfusionsversuchen der Wassernettoflux aus der

Änderung der Phenolrotkonzentration bestimmt:

$$\text{Gl. (2)} \quad \phi = \frac{\dot{V}_0 - \dot{V}_Z}{G} = \frac{\dot{V}_0 \, (1 - C_0/C_Z)}{G}$$

$\dot{V}_0$ = Perfusionsrate (ml/min)

Als Einheit wurde $\mu l \; min^{-1} g^{-1}$ gewählt. Ein positives Vorzeichen bedeutet einen Nettoflux vom Lumen ins Blut.

B. Bestimmung der Radioaktivität

Die Zusammensetzung der Lösungen für die Radioaktivitätsbestimmungen ist im Anhang, Abschnitt 4, zu finden.

1. Blut

250 µl Blut wurden in 1 ml Lumasolve®-Isopropanol gelöst. 15 Minuten nach Zugabe von 0,4 ml Wasserstoffperoxid zur Entfärbung wurden 10 ml Lumagel®-HCl zugesetzt.

2. Perfusionslösung, Perfusat und Injektionslösung

100 µl Perfusionslösung oder Perfusat bzw. 20 µl Injektionslösung wurden mit 5 ml Szintillationsmischung versetzt.

3. Flüssigkeitsszintillationsmessung

Die Aktivität der Proben wurde nach 30 Minuten Adaptation im Flüssigkeitsszintillationszähler gemessen. Einem Teil der Proben wurden 0,1 ml einer ^{14}C-Toluol-Standardlösung zugesetzt, diese nochmals gemessen und aus der Differenz der cpm und der zugefügten dpm die Zählausbeute in % ermittelt (interne Standardisierung). Diese ergab, gegen das Kanalverhältnis der externen Standardisierung aufgetragen, eine Eichkurve. Mit Hilfe dieser Quenchkurve wurden, nach Abzug der Hintergrundstrahlung, die gezählten Zerfälle (cpm) in Aktivität (Bq/ml) umgerechnet. Die spezifische Aktivität der Substanzen in den einzelnen Perfusions- und Injektionslösungen folgte aus der gemessenen Aktivität der Lösungen und der Konzentration (markierter und nicht markierter Anteil).

C. Lösungen

Einzelheiten siehe Anhang, Abschnitt 4

a. Pufferlösung 1 ist ein 1/15 molarer Natrium-Kalium-Phosphatpuffer, der mit NaCl und Urethan auf eine Osmolalität von 320 mosmol/kg eingestellt wurde (pH = 6,8), entsprechend der Osmolalität des Plasmas von Ratten, die eine Urethannarkose erhalten haben (106). Hier diente Phenolrot als Markierungssubstanz für den Wassernettoflux.

b. Pufferlösung 2 ist ein 1/15 molarer Natrium-Kalium-Phosphatpuffer, der mit NaCl, Urethan und Cyclohexansulfamat-Na (NaCHS) auf eine Osmolalität von 320 mosmol/kg eingestellt wurde; pH = 6,8. Der Zusatz von NaCHS (93) sorgte dafür, daß das intraluminale Volumen möglichst konstant blieb, d.h. ein Wassernettoflux nahe Null wurde angestrebt (109).

c. Die Konzentration der Substrate Antipyrin, Benzoesäure, α-Methyl-D-Glucosid, Harnstoff und Benzylamin betrug 1 mmol/l. In den Perfusionslösungen war die Aktivität des ^{14}C-markierten Anteils 80 nCi/ml, in den Injektionslösungen 120 nCi/ml.

d. Da Carboxymethylcellulose-Na, Na-Alginat und Guar Natrium und z.T. andere Ionen enthalten, wurde in den entsprechenden Injektionslösungen der NaCHS-Gehalt soweit reduziert, daß die Osmolalität von 320 mosmol/kg nicht überschritten wurde. Polyethylenglykol 35000 und Polyvinylpyrrolidon führten in der angewendeten Konzentration zu einer beträchtlichen Gefrierpunktserniedrigung. Daher wurde NaCHS weggelassen und der NaCl-Gehalt in der Injektionslösung soweit reduziert, daß eine Gefrierpunktserniedrigung resultierte, die einer Osmolalität von 320 mosmol/kg entsprach.

D. Bestimmung der Diffusionskonstanten

Die Diffusionskonstanten wurden nach der Methode von Andersen und Saddington (2), verbessert durch Wang (95), bestimmt. Bei dieser Art der Diffusionsmessung werden einseitig geschlossene, zylindrische Kapillaren verwendet, die die jeweilige Modellsubstanz in gelöster Form enthalten. Durch das offene Ende des Zylinders diffundiert die Substanz in das die Kapillaren allseitig umgebende Lösungsmittelbad. Die Zusammensetzung des Bades entspricht, bis auf die diffundierende Modellsubstanz, der der Lösung in den Kapillaren. An der Austrittsstelle muß zu jeder Zeit die Konzentration der Modellsubstanz Null betragen. Diese Bedingung wird durch ein entsprechend großes Badvolumen sowie Konvektion erfüllt. Nach einer festgelegten Zeit t wird die Diffusion abgebrochen und die Menge der in der Kapillare verbliebenen Substanz bestimmt. Die experimentelle Bestimmung des Diffusionskoeffizienten mit der geschilderten Methodik stellt eine nicht-stationäre Diffusionsmessung mit Konzentrationsmessung nach einer Zeit t dar. Zur Berechnung von D werden folgende Größen benötigt:

m_t = Substanzmenge in der Kapillare nach der Zeit t,
m_0 = Menge zum Zeitpunkt Null,
l = Länge der Kapillare.

Der nicht-stationäre Fall einer Diffusion wird durch das 2.Fick'sche Gesetz beschrieben, dessen Lösung für einseitig geschlossene Zylinder mit D als einer Konstanten lautet (16):

Gl. (3)
$$\frac{m_t}{m_0} = \frac{8}{\pi^2} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{1}{(2n+1)^2} \exp\left[-(2n+1)^2 \frac{\pi^2 \; D \; t}{4 \; l^2}\right]$$

Versuchsaufbau und -ablauf

Glaskapillaren (A) mit verschiedenen Längen (ca. 25; 30; 35 mm) und annähernd gleichem Durchmesser (ca. 0,8 - 0,9 mm) wurden aus Schmelzpunktröhrchen durch Zuschmelzen eines Endes hergestellt (Abb.2).

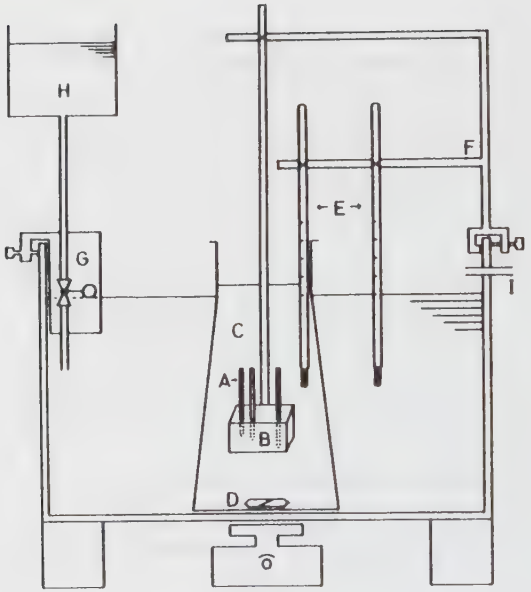


Abb.2: Schema des Versuchsaufbaus für die Bestimmung der Diffusionskonstanten.

A: Kapillaren
B: Halterung für Kapillaren
C: Lösungsmittelbad
D: Rührmagnet
E: Thermometer
F: Halterung
G: Schwimmerventil
H: Wasserreservoir
I: Überlauf

Die genaue Länge und der Durchmesser wurden mit Hilfe eines Stereomikroskops mit Mikrometermaßstab vermessen. Außerdem wurde das Volumen durch Befüllen der Kapillaren mit Quecksilber und anschließender Auswaage ermittelt. Jeder Versuch wurde mit drei Gruppen zu drei Kapillaren gleicher Länge, insgesamt also neun Kapillaren, durchgeführt. Mit Hilfe einer Mikrospritze wurde die ^{14}C markierte Modellsubstanz (1 mmol/l), gelöst in Pufferlösung ohne oder mit hochmolekularem Zusatz, in die Kapillaren gefüllt. Die Lösung war mindestens eine Stunde vor Beginn des Experiments bei 38°C temperiert worden. Nach dem Befüllen wurden die Glaskapillaren in einer mit verschieden tiefen Bohrungen versehenen Halterung aus Plexiglas (B) fixiert, so daß sich die offenen Enden alle auf gleicher Höhe befanden. Die Haltevorrichtung wurde daraufhin in das Lösungsmittelbad (C) in Form eines mit 2200 ml befüllten Erlenmeyerkolbens bis kurz unterhalb der Kapillaröffnung 5 Minuten lang eingehängt, um die Halteapparatur auf 38°C zu adaptieren. Anschließend wurde die Vorrichtung bis ca. 8 cm über dem Boden des Gefäßes abgesenkt. Die Badflüssigkeit wurde mit Hilfe eines Magnetrührers (D) in Bewegung gehalten. Ein die gesamte Apparatur umgebendes, thermostatisiertes Wasserbad gewährleistete eine über den Versuchsablauf gleichbleibende Temperatur von 38°C (± 0,05°C). Nach den Versuchen, die 24, 48 und 72 Stunden dauerten, wurden die Kapillaren dem Bad entnommen, ihr Inhalt mit 500 µl Wasser aus einer Mikrospritze in ein Mikrovial gespült, 4,5 ml Lumagel® zugesetzt und die Aktivität durch eine Flüssigkeitsszintillationszählung bestimmt ($=m_t$). Der Mittelwert dreier analoger Versuche, bei denen die Kapillaren nur kurz (= eine Minute) ins Bad eingetaucht wurden, lieferte die Größe m_0. Als Maß für die Substanzmenge wurde die gemessene Aktivität in Bq verwendet. Für jede Kapillare lagen somit 3 m_t-Werte (24,48 und 72 h) und ein m_0-Wert vor. Mit diesen 4 Werten wurde aus Gleichung (3) mit Hilfe der nichtlinearen Regression die Diffusionskonstante berechnet und über sämtliche Kapillaren gemittelt. Als Anhalt für die Genauigkeit der benutzten Versuchsanordnung diente die Diffusionskonstante von Harnstoff in Wasser. Das Ergebnis von 1,367 ± 0,048 x 10^{-5} cm^2/s stimmt gut mit dem Wert von 1,3725 x 10^{-5} cm^2/s, gemessen mit der Gouy'schen Interferenz-Methode (37), überein.

E. Dialyse

Die Wechselwirkungen der Substrate mit den verwendeten Gelbildnern wurde mit Hilfe der Gleichgewichtsdialyse untersucht: Apparatur DIANORM, Teflon-Dialysezelle, Cellulosemembran (seamless cellulose tubing, Ausschlußgrenze MG = 12000). In Vorversuchen wurde die Zeit bis zur Erreichung eines sicheren Gleichgewichtszustands zu 5 Stunden bestimmt. Die Cellulosemembranen wurden durch Waschen (15 min) mit dem. Wasser, Einlegen (10 min) in Ethanol, erneutes Waschen (20 min) in dem. Wasser und Quellung in der entsprechenden Pufferlösung (15 min) vorbereitet. Nach Einspannen der Membran wurden die Zellenhälften mit je 200 µl substanzhaltiger (1 mM, ^{14}C-markiert) Pufferlösung ohne bzw. mit Zusatz von Gelbildner befüllt. 2 Blocks mit je 5 Zellen wurden in eine Rotation (16 Upm) um eine horizontale Achse senkrecht zur Membran versetzt, um eine gleichmäßige Durchmischung der Lösungen während der Dialyse zu gewährleisten. Nach 5 Stunden wurde der Inhalt jeder Zellenhälfte mittels einer Pipette in Eppendorf-Gefäße entleert, 50 µl Lösung entnommen und nach Zugabe von 4,5 ml Lumagel® die Aktivität der Modellsubstanz mit Hilfe der Flüssigkeitsszintillationszählung gemessen. Alle Versuche erfolgten bei Raumtemperatur. Der Quotient "Aktivität in der Lösung ohne Polymerzusatz" durch "Aktivität in der Lösung mit Polymerzusatz" ergab den gewünschten Konzentrationsquotienten.

F. Messung des kolloidosmotischen Drucks

Der durch die hochmolekularen Substanzen hervorgerufene onkotische Druck wurde bei Raumtemperatur mit einem Kolloidosmometer bestimmt, das den Druckunterschied zwischen zwei durch eine semipermeable Membran (zweischichtige Cellulosemembran, Ausschlußgrenze für Moleküle mit 10000 Dalton) getrennte Zellenhälften mißt. Nach einstündiger Konditionierung der Membran in Pufferlösung erfolgte die Eichung mit Puffer (=0 mm Hg-säule) und einer 5%igen Rinderalbuminlösung (=19,5 mm Hg-säule); Probenvolumen 200 µl. Nach jeder der 5 Einzelmessungen wurde die Zellenhälfte mit Pufferlösung gespült und, falls erforderlich, ein erneuter Nullwertabgleich vorgenommen. Sämtliche Gelbildner waren in Pufferlösung 2 gelöst, da sich das in der Pufferlösung 1 enthaltene Phenolrot in der Membran anreicherte und eine Messung unmöglich machte.

G. Viskositätsmessung

Die Viskosität der bei den Resorptions-, Wassernettoflux- und Diffusionsversuchen verwendeten Polymerlösungen wurde jeweils im Anschluß an ihre Bereitung mit Hilfe eines Routineviskosimeters nach Cannon-Fenske gemessen. Die verwendeten Viskosimeter deckten einen Meßbereich von 0,8 - 8000 cSt ab. Es wurde die Zeit gemessen, welche die zu prüfende Flüssigkeit benötigte, um unter dem Einfluß der Schwerkraft g in einem Kapillarrohr eine definierte Strecke zu durchfließen. Durch einen das Viskosimeter umschließenden Wärmemantel war sichergestellt, daß während der Messung eine konstante Temperatur von 38^{0}C herrschte. Die Angleichzeit der Probe an die Badtemperatur betrug etwa 15 Minuten.

Da es sich bei den verwendeten Lösungen hydrophiler Polymere um Nicht-Newton'sche Systeme handelte, die pseudoplastisches Fließverhalten zeigen, waren zur genaueren Charakterisierung der Fließeigenschaften zusätzliche Messungen mit einem Rotationsviskosimeter (System Brookfield) notwendig. Das Gerät besaß einen Meßbereich von 1 - 2 000 000 cp. Das Brookfield-Viskosimeter mißt das durch einen in der zu untersuchenden Flüssigkeit rotierenden Meßkörper induzierte Drehmoment, das benötigt wird, den viskositätsbedingten Widerstand gegen die eingeleitete Bewegung zu überwinden. Um die Viskosität der Flüssigkeit bei verschiedenen Kraftbeanspruchungen zu messen, war es möglich, die Umdrehungsgeschwindigkeit sowie den Meßkörper (Spindel) zu variieren.
Die Temperierung der Lösung erfolgte durch ein doppelwandiges Gefäß aus Plexiglas (Innendurchmesser 7 cm), das von erwärmtem Wasser (38^{0}C) durchströmt wurde.

H. Biometrische Auswertung

1. Darstellung der Ergebnisse

Der Mittelwert und Standardfehler werden in der Form $x \pm s_x$ angegeben, dazu folgt (ggf. an anderer Stelle) die Anzahl N. Wenn die Standardabweichung von Interesse ist, wird sie durch s = ... gekennzeichnet. Die "Fehler" der berechneten Parameter (z.B. Regressionskoeffizient) haben ebenfalls das $\pm$ - Zeichen.

2. Vergleich zweier Versuchsgruppen

Dieser erfolgte bei unverbundenen Stichproben mit dem Gruppen-t-Test, und bei verbundenen Stichproben mit dem t-test für Paare.

3. Varianzanalysen

In der Regel waren die Versuchsanordnungen komplizierter. Bei einem Tier wurden mehrere Messungen zeitlich hintereinander (Perioden) durchgeführt. Die Tiere wurden als Blöcke angesehen und Tiere mit gleicher "Behandlung" zu einer Gruppe zusammengefaßt. Die Summe der Abweichungsquadrate (SAQ) "insgesamt" wurde in die SAQ "zwischen Gruppen", SAQ "zwischen Tieren innerhalb Gruppen", SAQ "zwischen Perioden" und SAQ "Rest" zerlegt. Da häufig die zeitliche Änderung von Interesse war, wurde gezielt der lineare Kontrast der SAQ "zwischen Perioden" berechnet (97). Ein Unterschied zwischen den Gruppen ("Behandlungseffekt") wurde mit dem F-Test: DQ "zwischen Gruppen" / DQ "zwischen Tieren innerhalb Gruppen" (DQ = Durchschnittsquadrat = SAQ/Freiheitsgrade) und die zeitliche Änderung mit dem F-Test "linearer Kontrast"/DQ "Rest" geprüft (siehe Tab.2-5, Tab.6-14 und 17).
Im einfacheren Fall wurde die SAQ "insgesamt" in die SAQ "zwischen Tieren", SAQ "zwischen Perioden" und SAQ "Rest" zerlegt; der lineare Kontrast der SAQ "zwischen Perioden" wurde gegen das DQ "Rest" im F-Test geprüft (biometrische Auswertung zu Abb.3).

Wenn keine Blöcke in Form von Mehrfachmessungen bei einem Tier vorlagen, wurde die SAQ "insgesamt" in die SAQ "zwischen Gruppen" und SAQ "innerhalb Gruppen" zerlegt und der Unterschied zwischen den Gruppen, ggf. ein linearer Kontrast, durch Vergleich des DQ "zwischen Gruppen" bzw. des linearen Kontrastes und des DQ "innerhalb Gruppen" im F-Test geprüft (siehe Abb.5 unten, 2. - 5. Konzentration; Abb.5 oben,

Diffusionskonstante; Tab.17; Test 4 in Tab.15,16).
Gezielte Fragen zum Unterschied zwischen den Gruppen wurden durch Verwendung der entsprechenden Kontraste geprüft: Test 5 in Tab.15 und 16 (Gruppe ohne Zusatz gegen alle Gruppen mit Zusatz zusammengenommen); Test 6 in Tab. 15,16,17 und 27 (Dunnett-Test zum Vergleich jeder Gruppe mit der Kontrolle, 57); Tukey-Test zum paarweisen Vergleich aller Gruppen in Tab.17 (57).

4. Rangvarianzanalyse und Konkordanzkoeffizient

Die Rangvarianzanalyse nach Friedman (80) und der Konkordanzkoeffizient nach Kendall (66) dienten zur Überprüfung, ob der Einfluß der Polymere auf die Diffusionskonstanten der Substrate konkordant verläuft (Abb.44).

5. Regressionsanalyse

In den Versuchen mit einmaliger Gabe der Substrate in das Darmlumen wurde für jedes Tier eine Kurve für die Zeitabhängigkeit der Erscheinensrate erhalten. Diese Kurve ergab nach logarithmischer Transformation der Erscheinensrate eine Gerade. Es lagen also mehrere Gruppen von Einzelgeraden vor. Die SAQ "insgesamt" wurde in die SAQ "zwischen Gruppen", SAQ "zwischen Tiere innerhalb Gruppen" und SAQ "innerhalb Tiere" zerlegt. Der F-Test DQ "zwischen Gruppen" / DQ "zwischen Tiere innerhalb Gruppen" prüft, ob in vertikaler Richtung ein Unterschied zwischen den Gruppen von Geraden besteht (Test 3, Tab.15,16,5b). Durch Anpassung von individuellen Geraden an die Ergebnisse jedes einzelnen Tieres wurde die SAQ "individuelle Regression" erhalten. Die Differenz zur SAQ "insgesamt" ist die SAQ "um individuelle Regression". Die Annahme paralleler Geraden innerhalb der Gruppen (gemeinsamer Regressionskoeffizient für die Geraden einer Gruppe) führte zur SAQ "Gruppen-Regression" und die Annahme eines Regressionskoeffizienten für sämtliche Geraden zur SAQ "gemeinsame Regression". Die Differenz SAQ "individuelle Regression" - SAQ "Gruppen-Regression" ist die SAQ "Parallelität innerhalb Gruppen" und somit ein Maß für die Abweichung der Steigung der Individualgeraden von der mittleren Steigung innerhalb der Gruppe. Die Differenz SAQ "Gruppen-Regression" - SAQ "gemeinsame Regression" ist die SAQ "Parallelität zwischen Gruppen" und damit ein Maß für die Abweichung der Steigung der mittleren Geraden zwischen den Gruppen. Der F-Test DQ "Parallelität innerhalb Gruppen" / DQ "um individuelle Regression" prüft, ob für jedes Tier ein individueller Regressionskoeffizient angenommen werden muß (Test 1, Tab.15,16). Die Prüfung des DQ

"Parallelität zwischen Gruppen" gegen das DQ "Parallelität innerhalb Gruppen" gibt Auskunft darüber, ob sich die mittlere Steigung der Geraden zwischen den Gruppen unterscheidet (Test 2, Tab.15,16,5b).

6. Modellanalyse

Mit Hilfe der nichtlinearen Regression - Modifikation der Gauss-Newton Methode der kleinsten Quadrate für die Anpassung von Regressionsfunktionen nach Hartley (40); siehe auch Daniel und Wood, S.193 (19); Simon S.231 (86) - wurden die Gleichungen 5 und 7 (siehe Kapitel Ergebnisse Abschnitt B 6.1) für die Abhängigkeit der Erscheinensrate von der Zeit an die experimentellen Ergebnisse angepaßt:

abhängige Variable:

ϕ = Erscheinensrate (nmol $min^{-1}g^{-1}$)

unabhängige Variable:

t = Zeit (min)

zusätzliche unabhängige Variable:

C_0 = luminale Anfangskonzentration (nmol/ml)
V = Injektionsvolumen (ml)
W = Darmfeuchtgewicht (g)
R = intraluminaler Radius (cm)
D = Diffusionskonstante des Substrats (cm^2/s)
f = Anteil des resorbierten Substrats, der im Blut erscheint

unbekannte Parameter:

Modell A
P_T = Permeabilitätskoeffizient für den Permeationsweg Darmlumen - Blut (cm/s)

Modell Af
P_T sowie f

Modell B
P_2 = Permeabilitätskoeffizient für den Permeationsweg Mukosaoberfläche - Blut (cm/s)

Modell Bf
P_2 sowie f

Modell Br
P_2 sowie R

Da die Streuung der Erscheinensraten bei größeren Mittelwerten zunahm, wurde die Analyse nach logarithmischer Transformation der Einzelwerte durchgeführt. Die Güte der Anpassung kann am Bestimmungsmaß (97) oder quadrierten multiplen Korrelationskoeffizienten (19):

B = 1 - SAQ "um Regression" / SAQ "insgesamt"

(SAQ "um Regression" = SAQ um die angepaßten Kurven) abgelesen werden. Es entspricht bei der linearen Regression dem Quadrat des Korrelationskoeffizienten. Außerdem ist Akaike's information criterion (AIC) angegeben (112), das die Anzahl der zu bestimmenden Parameter berücksichtigt. Die Anpassung ist am besten, je näher B an 1 liegt und je kleiner (auch negative Werte) AIC ist. Ein Minimum hat AIC, wenn die Anpassung mit der geringsten Zahl von Parametern am besten ist. Der Vergleich der Modelle erfolgte mit Hilfe des F-Tests:

F = Reduktion der SAQ "um Regression" / Zahl der neu eingeführten Parameter dividiert durch DQ "um Regression" (= SAQ "um Regression" / Freiheitsgrade) nach Einführung der zusätzlichen Parameter.

Dieser Vergleich ist nur bei hierarchisch zusammenhängenden Modellen möglich. In den anderen Fällen kann nur das AIC (ohne Test) verglichen werden. Für die Prüfung auf "Behandlungseffekte" (Einfluß des Polymerzusatzes auf die Parameter der Modelle) wurden gemeinsame Parameter für alle Gruppen von Kurven zusammen bestimmt und dann separat die Parameter für die einzelnen Gruppen. Die Reduktion der SAQ durch die Vermehrung der Anzahl der Parameter wurde im o.g. F-Test auf Signifikanz geprüft: Test 7,8,9 in Tab.18 - 25.

ERGEBNISSE

A. Einfluß von Hydrogelbildnern sowie erhöhtem intraluminalen Druck auf die Resorption im perfundierten Jejunum der Ratte

1. Einleitung und allgemeine Ergebnisse

Zur Untersuchung des Einflusses von Hydrogelbildnern auf die enterale Resorption wurde zunächst die Versuchsanordnung der perfundierten Jejunumschlinge der Ratte ausgewählt. Ein steigender Zusatz von Methylcellulose MH 300 führte entgegen den Erwartungen zu einem Anstieg der Antipyrinresorption aufgrund einer Dehnung der Darmwand (Abschnitt A 2). Die zunehmende Viskosität der Perfusionslösung verursachte eine Druckerhöhung im Darmlumen (Abschnitt A 3). Eine intraluminale Druckerhöhung vergrößerte den intraluminalen Radius und die resorbierende Oberfläche, was eine höhere Resorptionsrate zur Folge hatte (Abschnitt A 4). Wegen der (unerwünschten) Dehnung der Darmwand bei der Perfusion einer Darmschlinge mit viskosen Lösungen wurden weitere Substrate und Hydrogelbildner mit dieser Versuchsanordnung nicht untersucht.

Da Blackburn und Johnson (7) nach der Vorperfusion einer Darmschlinge der Ratte mit einer Guarlösung eine Verminderung der Glucoseresorption beobachteten, wurden ähnliche Versuche mit Antipyrin und α-Methyl-D-Glucosid durchgeführt (Abschnitt A 5).

Die experimentellen Daten sind ausführlich in den Tabellen 2 - 5 im Anhang aufgelistet, die graphischen Darstellungen sind im Textteil zu finden.

Die Durchblutung betrug im Mittel (N = 104) 1,02 ± 0,02 (s = 0,23) ml $min^{-1}g^{-1}$, der Wassernettoflux 5,6 ± 1,2 (s = 12,3) µl $min^{-1}g^{-1}$. Feuchtgewicht (N = 148), Länge nach Heraustrennen, Abstand des Jejunumsegments von der Flexura duodenojejunalis (N = 201), in situ-Länge, -Fläche und -Radius (N = 184) betrugen im Mittel 386,6 ± 6,3 (s = 76,4) mg, 4,6 ± 0,1 (s = 0,8) cm, 25,4 ± 0,5 (s = 6,8) cm, 4,9 ± 0,1 (s = 0,6) cm, 5,43 ± 0,10 (s = 1,33) cm^2 und 1,75 ± 0,03 (s = 0,36) mm. Diese Nebenergebnisse sind in den Tabellen für jede Versuchsserie einzeln aufgeführt.

2. Einfluß von Methylcellulose MH 300 auf die Antipyrinresorption bei Perfusion einer Darmschlinge

Der optimale Versuchsaufbau bei geringstem Aufwand für die Resorptionsuntersuchungen mit Perfusion einer Darmschlinge wurde im folgenden Vorversuch ermittelt (Abb.3): Nach einer 15-minütigen Vorperfusion mit substratfreier Pufferlösung wurde eine Jejunumschlinge der Ratte mit einer Pufferlösung ohne Methylcellulosezusatz 30 min lang perfundiert (Perfusionsrate 0,1 ml/min) und die Erscheinensrate von Antipyrin im Darmvenenblut gemessen. Danach wurde die Schlinge mittels Durchblasen von Luft entleert und die luminale Perfusion für weitere 30 min fortgesetzt (Kontrolle, 8 Ratten). Bei weiteren 8 Ratten enthielt die Pufferlösung in der 2. Perfusionsperiode 17,5 g/l Methylcellulose MH 300. Bei Fortsetzung der Perfusion mit der Lösung ohne Zusatz blieb die Resorptionsrate unverändert (Kurve 1, Vergleich 3. - 6. gegen 9. - 12. Periode: P) 0,05). Mit dem MC-Zusatz stieg die Resorptionsrate innerhalb der ersten 10 min auf einen höheren Wert an (Kurve 2) und blieb auf diesem konstant bis zum Versuchsende (linearer Kontrast der 9. - 12. Periode nicht signifikant). Die Durchblutung (Kurve 3 und 4) sank im Laufe der 60 min um 9,9 bzw. 13,5 % (Kurve 3 und 4) ab (linearer Kontrast P (0,001).

In den Hauptversuchen wurden die beiden Perfusionsperioden auf 20 min gekürzt und die Erscheinensrate wurde nur in den jeweils zweiten 10 min gemessen (siehe Abb.4). Abbildung 5 zeigt die Änderung der Erscheinensrate von Antipyrin (2.Perfusionsperiode - 1.Perfusionsperiode) bei steigendem Methylcellulosegehalt der Perfusionslösung (0 - 17,5 g/l). Bei MC-Konzentrationen über 4,4 g/l nimmt die Änderung der Resorptionsrate etwa linear zu. Parallel dazu verläuft die Änderung des in situ gemessenen luminalen Radius und der daraus errechneten in situ-Fläche (Fläche des Zylindermantels aus in situ-Radius und in situ-Länge). Die Diffusionskonstante fällt mit steigendem MC-Gehalt linear von 1,145 auf 0,825 x 10^{-5} cm^2 / s ab, während die Viskosität der Perfusionslösungen exponentiell von 0,7 auf 94,05 cSt ansteigt (siehe Tabellen 2 und 3 sowie Abschnitt C 4).

Entgegen den Erwartungen nahm die Resorptionsrate von Antipyrin mit steigendem Methylcellulosegehalt bei Perfusion einer Darmschlinge zu, obwohl die Diffusionskonstante abnahm. Als Ursache ist die Vergrößerung der resorbierenden Darmoberfläche durch Dehnung der Darmwand anzunehmen, denn die Erscheinensrate stieg proportional zu der in situ-Fläche an (Abb.6).

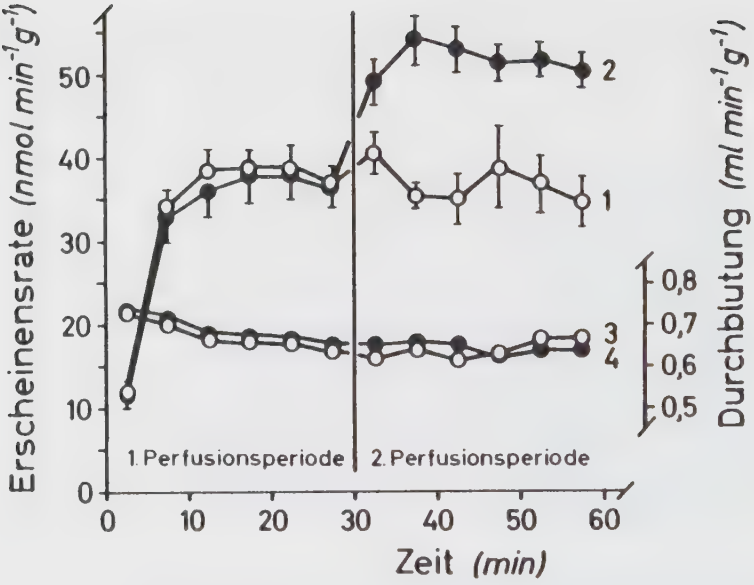
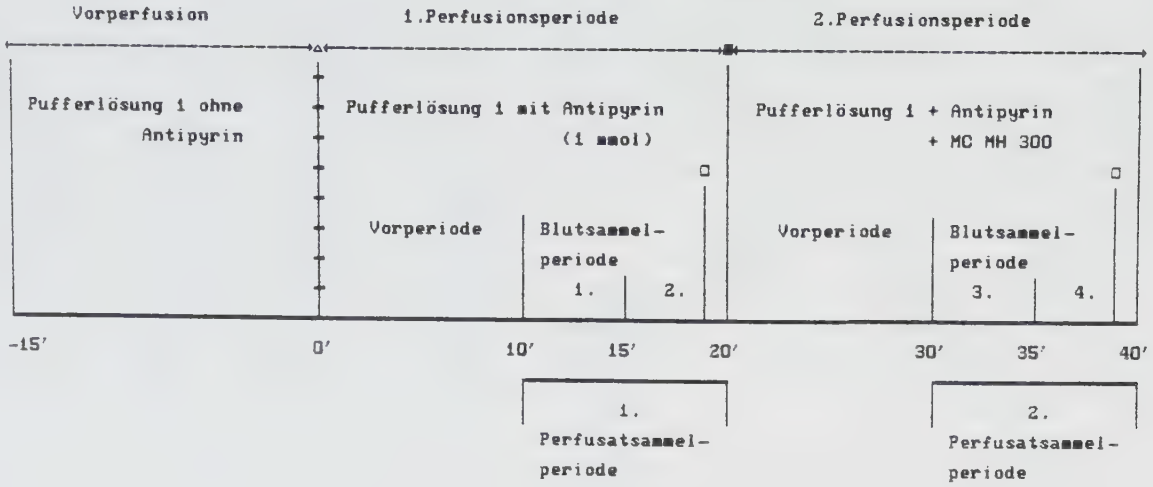


Abb.3: Einfluß von Methylcellulose MH 300 auf die Antipyrinresorption im perfundierten Jejunum der Ratte (Vorversuch).
Kurve 1: Perfusionslösung ohne Zusatz in beiden Perfusionsperioden.
Kurve 2: Perfusionslösung mit Zusatz von MC in der 2. Perfusionsperiode.
Kurven 3 und 4: Durchblutung (ml $min^{-1}g^{-1}$) zu Kurve 1 bzw. 2.
Antipyrinkonzentration 1 mmol/l, Perfusionsrate 0,1 ml/min, N = 8.

Abb.4: Schema des Versuchsablaufs der Resorptionsversuche mit MC MH 300 (luminale Perfusion), Perfusionsrate 0,1 ml/min.



□ = Messung des in situ-Umfangs und der -Länge

▵ = Wechsel der Perfusionslösung ohne Darmentleerung, schnelle Füllung der Schlinge mit 10 ml/min

■ = Entleerung der Darmschlinge mittels Luftdurchblasung, Wechsel der Perfusionslösung, schnelle Füllung mit 10 ml/min

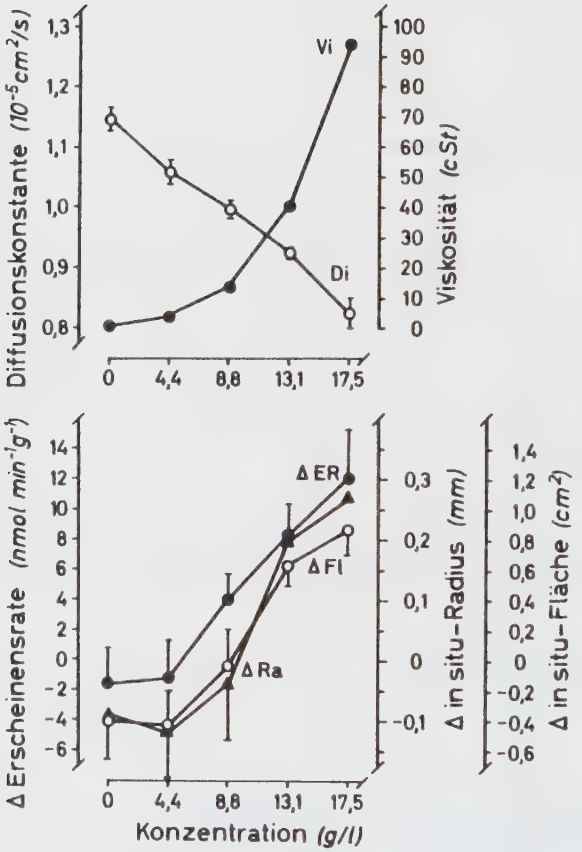


Abb.5: Einfluß von Methylcellulose MH 300 auf die Antipyrinresorption im perfundierten Jejunum der Ratte (Hauptversuch). Antipyrinkonzentration 1 mmol/l, Perfusionsrate 0,1 ml/min, N = 8.
oben: Diffusionskonstante (Di) und Viskosität (Vi) der Perfusionslösung.
unten: Änderung (2.-1. Periode) der Erscheinensrate (ΔER), des in situ-Radius (ΔRa) und der in situ-Fläche (ΔFl).

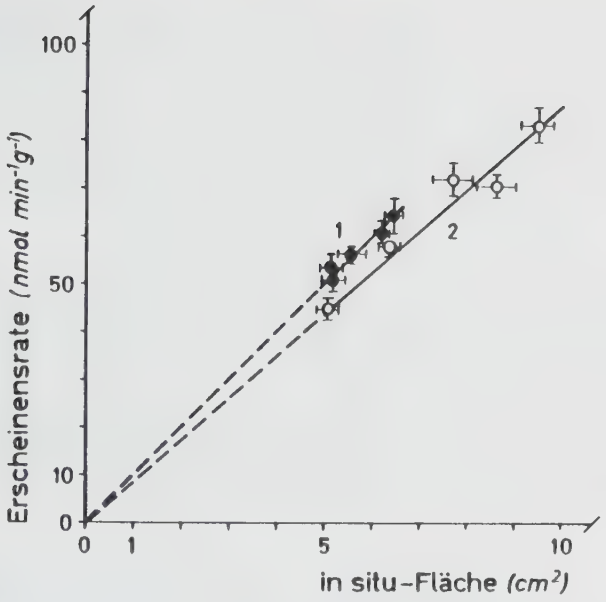


Abb.6: Korrelation zwischen in situ-Fläche und Erscheinensrate von Antipyrin bei Steigerung der luminalen Methylcellulosekonzentration von 0 bis 17,5 g/l (Kurve 1) und Erhöhung des Auslaufdruckes von 0 bis 8 cm (Kurve 2). Regressionskoeffizient für Kurve 1 10,00 ± 0,07 bzw. für Kurve 2 8,75 ± 0,19 nmol min^{-1} g^{-1} cm^{-2}, Ordinatenabschnitt nicht signifikant von Null verschieden. N = 8.

3. Der intraluminale Druck bei Perfusion einer Darmschlinge

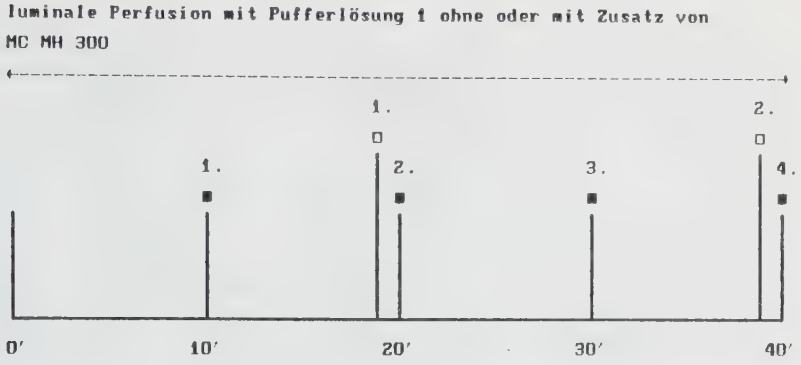
In separaten Experimenten wurde der hydrostatische Druck am Einlauf der Darmschlinge (Druck am Auslauf immer Null) bei Perfusion mit Lösungen, die steigende Methylcellulosekonzentrationen enthielten, gemessen (siehe oberes Schema in Abb.7). Der Druck am Einlauf war über die Perfusionsdauer praktisch konstant (Abb.8 links) und stieg nicht-linear von 25 mm auf etwa 63 mm H_2O bei einer MC-Konzentration von 17,5 g/l an. Ein Zusammenhang zwischen Druck und intraluminalem Radius wurde durch die Variabilität zwischen den Tieren überdeckt.

Um die geringere Variabilität bei Vergleichen innerhalb der Tiere auszunutzen, wurde der Druck an der Einlaufkanüle in einer ähnlichen Versuchsanordnung wie bei den Resorptionsversuchen gemessen (siehe unteres Schema in Abb.7). Abbildung 8 rechts (Tab.3) zeigt die Änderung des intraluminalen Druckes am Einlauf, des intraluminalen Radius und der Oberfläche (2. - 1. Perfusionsperiode) mit steigendem MC-Gehalt der Perfusionslösung. Besonders bei der höchsten MC-Konzentration ist der gleichzeitige Anstieg der drei genannten Größen zu erkennen.

4. Einfluß des intraluminalen Druckes auf die Antipyrinresorption

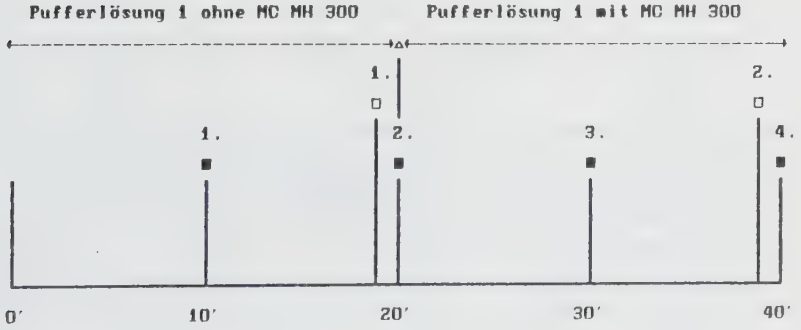
Die Auswirkung einer experimentell verursachten Erhöhung des intraluminalen Drucks auf die Antipyrinresorption wurde in der gleichen Versuchsanordnung, wie in Kap. Methodik Abschnitt A II beschrieben, untersucht, wobei in der 2.Perfusionsperiode der Auslauf auf 0, 2, 4, 6 und 8 cm Höhe über der Schlinge gehoben wurde (siehe Abb.9). Die Änderung der Erscheinensrate (2. - 1.Perfusionsperiode) wurde mit steigendem Druck größer (Abb.10 oben, Tab.4) und die Änderung der Oberfläche stieg linear an, basierend auf einer Vergrößerung des Radius und der in situ-Länge (Abb.10 unten). Auch in diesen Versuchen stieg die Erscheinensrate proportional zu der in situ-Fläche an (Abb.6). Abbildung 11 zeigt den in getrennten Experimenten gemessenen hydrostatischen Druck am Einlauf und den mittleren intraluminalen Druck (Mittelwert aus Einlauf- und Auslaufdruck) bei Verlagerung des Auslaufes nach oben.

Abb.7: Schema des Versuchsablaufs der Druckmessungen im perfundierten Jejunum der Ratte, Perfusionsrate 0,1 ml/min.



■ = Messung der Höhe der Flüssigkeitssäule am Glasrohr

□ = Messung des in situ-Umfangs und der -Länge



△ = Entleerung des Darmlumens mittels Luftdurchblasung, schnelles (10 ml/min) Füllen mit Pufferlösung 1 mit Zusatz

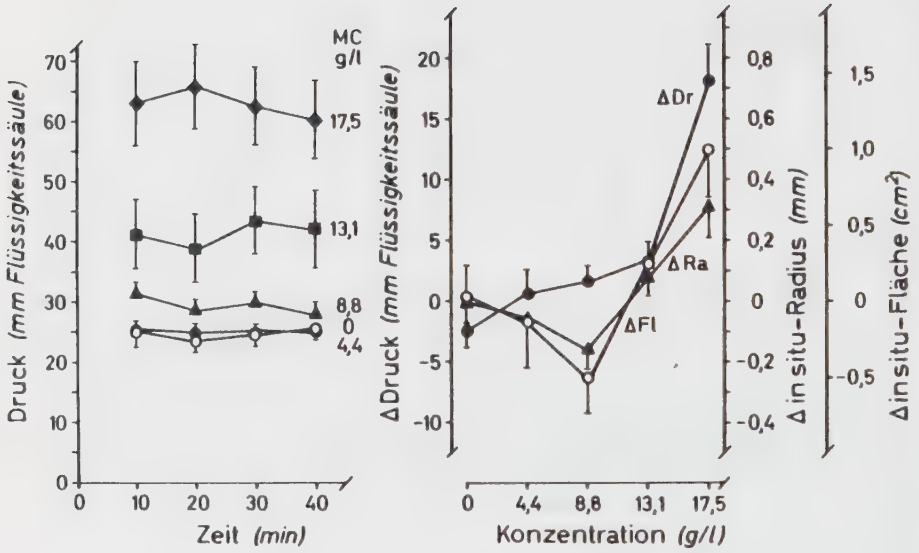
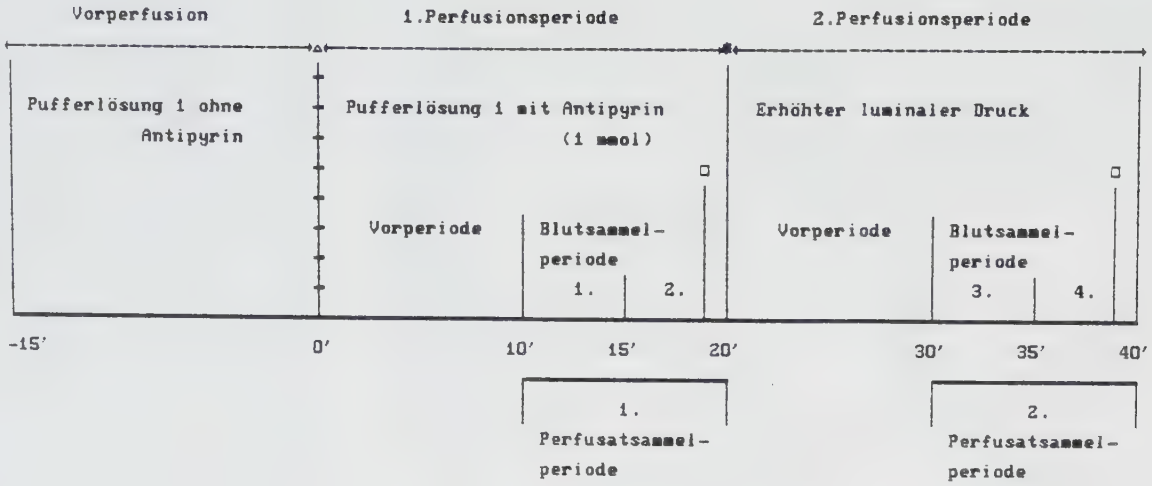


Abb.8: Einfluß von Methylcellulose MH 300 auf den hydrostatischen Druck am Einlauf einer perfundierten Jejunumschlinge der Ratte. N = 8.
links: zeitlicher Verlauf bei unterschiedlicher MC-Konzentration.
rechts: Änderung (2.-1. Periode) des Druckes (ΔDr), des in situ-Radius (ΔRa) und der in situ-Fläche (ΔFl).

Abb.9: Schema des Versuchsablaufs der Resorptionsversuche bei erhöhtem luminalem Druck, Perfusionsrate 0,1 ml/min.



□ = Messung des in situ-Umfangs und der -Länge

△ = Wechsel der Perfusionslösung ohne Darmentleerung, schnelle Füllung der Schlinge mit 10 ml/min

* = Entleerung der Darmschlinge mittels Luftdurchblasung, Auslauf auf gewünschte Höhe gebracht, schnelle Füllung mit 10 ml/min

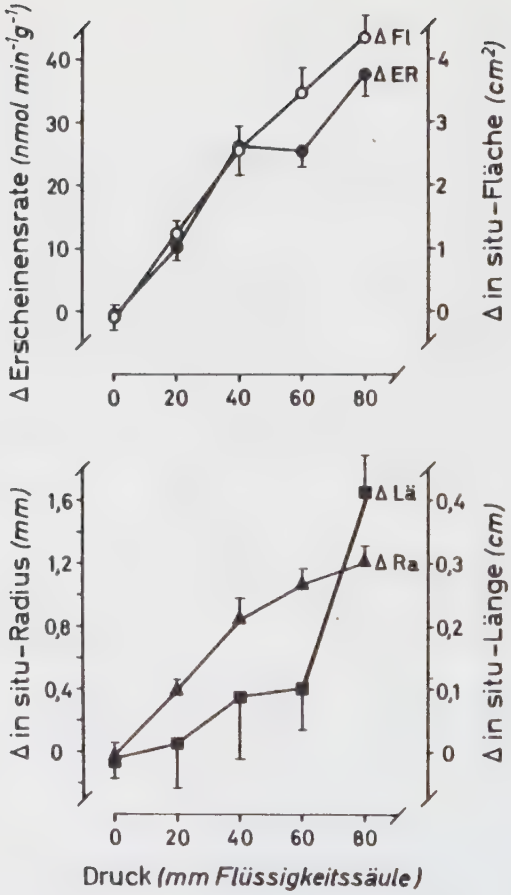


Abb.10: Einfluß des hydrostatischen Druckes auf die Antipyrinresorption im perfundierten Jejunum der Ratte. Antipyrinkonzentration 1 mmol/l, Perfusionsrate 0,1 ml/min, N = 8.
oben: Änderung (2.-1. Periode) der Erscheinensrate (ΔER) und der in situ-Fläche (ΔFl).
unten: Änderung des in situ-Radius (ΔRa) und der in situ-Länge (Δ Lä).

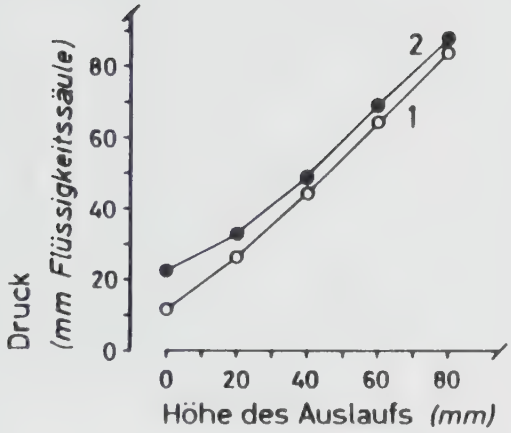


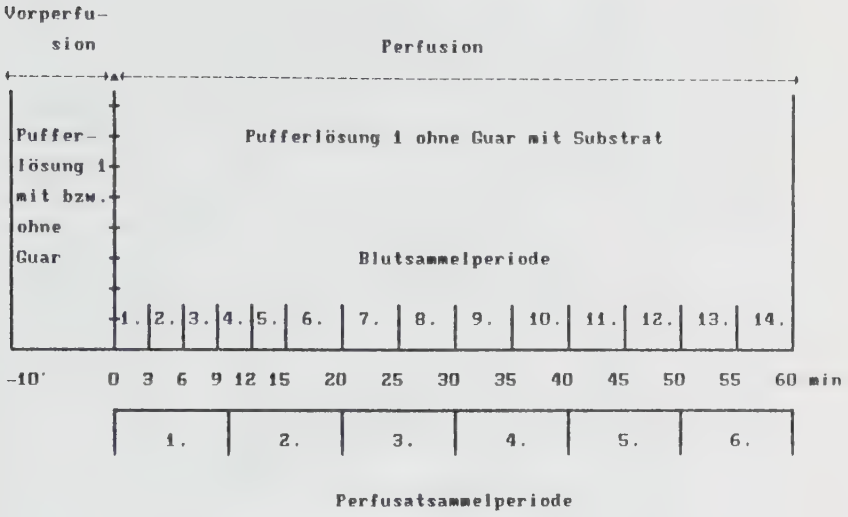
Abb.11: Abhängigkeit des hydrostatischen Drucks am Einlauf der perfundierten Jejunumschlinge der Ratte (Kurve 2) und des mittleren Druckes (Kurve 1) bei Änderung der Auslaufhöhe. N = 4.

5. Einfluß einer Guarvorperfusion auf die Antipyrin- und α-Methyl-D-Glucosidresorption im Jejunum der Ratte

Die geschilderten Resorptionsversuche mit Antipyrin (Abschnitt A 2) zeigen das gegenteilige Ergebnis zu den Untersuchungen von Blackburn und Johnson (7), die eine Verminderung der Resorption (Verschwinden aus dem Darmlumen) von Glucose nach Vorperfusion mit einer 6 g/l Guar enthaltenden Lösung beobachteten. Aus diesem Grunde wurden in Anlehnung an diese Untersuchungen folgende Resorptionsversuche mit Antipyrin und α-Methyl-D-Glucosid durchgeführt (Abb.12): Nach der Vorperfusion (Rate 0,2 ml/min) der Darmschlinge mit einer Pufferlösung (ohne Substrat) ohne (Kontrolle) oder mit 6 g/l Guar für 10 Minuten, wurde die Perfusion mit der gepufferten Substratlösung ohne Zusatz 60 min lang fortgesetzt und die Erscheinensrate im Darmvenenblut verfolgt. Bei dieser Versuchsanordnung ist zu beachten, daß die luminale Perfusion mit Guar vor der Substratperfusion lag und die Erscheinensrate vom Zeitpunkt Null verfolgt wurde. In den vorangegangenen Versuchen wurde Methylcellulose MH 300 gleichzeitig mit dem Substrat perfundiert und die Erscheinensrate im Fließgleichgewicht bestimmt.

Bei der Vorperfusion ohne Guarzusatz erreichte die Erscheinensrate nach 12 - 15 min ein Maximum und fiel dann wieder ab, bei α-Methyl-D-Glucosid stärker (Abb.13, Tab.5). Bei Vorperfusion mit der Guarlösung war der Anstieg der Erscheinensrate verzögert, die nach 25 Minuten die Werte der Kontrollen erreichte (Tab.5b). Danach war kein Unterschied der Resorptionsraten zu beobachten (Regressionskoeffizient und Kurvenabstand des absteigenden Kurvenanteils nicht signifikant verschieden).

Abb.12: Schema des Versuchsablaufs der Resorptionsversuche mit und ohne Guarvorperfusion, Perfusionsrate 0,2 ml/min.



▲ = Wechsel der Perfusionslösung ohne Luftdurchblasung, schnelle Füllung mit 10 ml/min

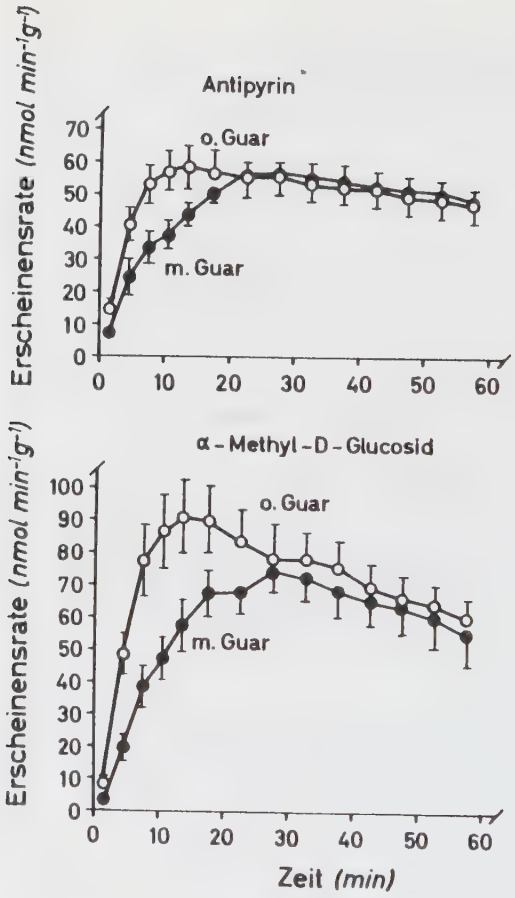


Abb.13: Einfluß einer Vorperfusion mit Zusatz von 6,0 g/l Guar auf die Antipyrin- und α-Methyl-D-Glucosidresorption im Jejunum der Ratte. Substratkonzentration 1 mmol/l, Perfusionsrate 0,2 ml/min, N = 6.

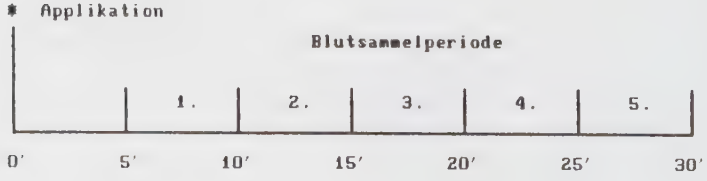
6. Zusammenfassung

Bei Perfusion einer Jejunumschlinge der Ratte mit Antipyrinlösungen, die steigende Konzentrationen von Methylcellulose MH 300 aufweisen, verursacht die zunehmende Viskosität eine Druckerhöhung im Darmlumen. Die Folge ist eine Dehnung der Darmwand mit Vergrößerung des intraluminalen Radius sowie der resorbierenden Oberfläche und bedingt einen Anstieg der Resorptionsrate von Antipyrin. Die Vergrößerung der Antipyrinresorptionsrate durch direkte Erhöhung des intraluminalen Druckes bestätigt den Mechanismus. Eine Vorperfusion mit einer substratfreien Guarlösung verzögert den Anstieg der Resorptionsrate aus der anschließend perfundierten Guar-freien Antipyrin- und α-Methyl-D-Glucosid-Lösung. Die Resorptionsrate nach Erreichen des Fließgleichgewicht wird durch die Vorperfusion mit Guar-Lösung nicht verändert.

B. Einfluß von hydrophilen Polymeren auf die Resorption im Jejunum der Ratte bei einmaliger Applikation

1. Einleitung und allgemeine Ergebnisse

Da die Perfusion einer Darmschlinge mit viskosen Lösungen zu einer Dehnung der Darmwand, und damit zu einer Vergrößerung der resorbierenden Fläche mit einer Erhöhung der Resorptionsrate führte (Kap.A), wurde der Einfluß der Hydrogelbildner sowie von PEG und PVP auf die enterale Resorption mit der Technik der "abgebundenen Darmschlinge" untersucht. Bei dieser Versuchsanordnung gibt es keine hydrodynamischen Einflüsse. Bei Versuchsbeginn ist die volle Substratkonzentration fast unmittelbar an der Schleimhautoberfläche wirksam. Es wurden jeweils 0,5 ml Substanzlösung ohne oder mit Zusatz der viskositätserhöhenden Stoffe in eine Jejunumschlinge injiziert und die Erscheinensrate der Substrate im Darmvenenblut 30 Minuten lang verfolgt: Die Darmschlinge war von den Nachbarsegmenten durch Abbinden so isoliert, daß die Jejunalvene nur Blut aus dieser Schlinge abführte. Dieses Blut wurde aufgefangen, gewogen und analysiert.
Der Versuchsablauf kann dem folgenden Schema entnommen werden:



Als Substrate dienten Antipyrin (nicht dissoziiert), Benzoesäure (dissoziierte Säure), Benzylamin (dissoziierte Base), Harnstoff (nicht dissoziiert, kleines Molekül) und α-Methyl-D-Glucosid (aktiv transportiert). Der Einfluß von Methylcellulose MH 300, Carboxymethylcellulose-Na, Guar, und Polyethylenglykol 35000 wurde für alle Substrate untersucht, bei Antipyrin zusätzlich der von Methylcellulose MH 1000, Na-Alginat und Polyvinylpyrrolidon. PEG und PVP wurden als hochmolekulare, aber nicht gelbildende Substanzen zum Vergleich in die Untersuchung einbezogen. Die Konzentration der Hydrogelbildner war so gewählt worden, daß Lösungen mit einer Viskosität von ca. 100 cSt

entstanden. Die PEG- und PVP-Lösungen besaßen eine geringere Viskosität (siehe Abschnitt C 4), da höhere Konzentrationen zu Lösungen mit einem osmotischen Druck über 320 mosmol geführt hätten. Um einen osmotischen Wasserfluß zu vermeiden, mußte dieser Wert eingehalten werden. Die Injektionslösungen (s. Kapitel Methodik, Abschnitt C) enthielten außerdem Cyclohexansulfamat-Na, um den Wassernettoflux auf etwa 0 und damit das intraluminale Volumen konstant zu halten (109).

Die Ergebnisse der Experimente sind ausführlich in den Tabellen 6 - 14 im Anhang niedergelegt, während sich die graphischen Darstellungen im Textteil befinden. Die Durchblutung der Darmschlingen betrug im Mittel (N = 304) 1,17 ± 0,02 (s = 0,64) ml $min^{-1}g^{-1}$. Sie nahm teilweise im Lauf der 30 Minuten um maximal 7,8 % ab. Feuchtgewicht (N = 374), Abstand von der Flexura duodenojejunalis (N = 373), Länge nach Herausstrennen (N = 373), in situ-Länge, -Fläche und -Radius (N = 360) des Segments betrugen im Mittel 311,4 ± 3,8 (s = 72,9) mg, 26,7 ± 0,4 (s = 7,9) cm, 4,2 ± 0,0 (s = 0,7) cm, 4,3 ± 0,0 (s = 0,6) cm, 5,67 ± 0,04 (s = 0,71) cm^2 und 2,14 ± 0,01 (s = 0,26) mm. Diese Nebenergebnisse sind in den Tabellen für jede Versuchsserie einzeln aufgeführt. Die gemessenen Erscheinensraten fielen etwa exponentiell mit der Zeit ab, so daß in den Diagrammen der Logarithmus der Erscheinensrate gegen die Zeit abgetragen wurde. Die Ergebnisse für die ersten 5 Minuten wurden weggelassen, da erst danach die Resorptionsrate das Fließgleichgewicht erreichte.

Die Kurven für die Zeitabhängigkeit der Erscheinensrate weichen im halblogarithmischen Diagramm nur gering von der Linearität ab. Sie wurden nach logarithmischer Transformation mit einer linearen Regressionsanalyse (Kap. Methodik, Abschnitt H 5) ausgewertet. Da die Steilheit der Kurven ein Maß für die Resorptionsgeschwindigkeit darstellt, wurde außerdem für jede Individualkurve (Gerade) der Regressionskoeffizient (= Tangens der Steigung) sowie der Achsenabschnitt bestimmt (Tab.15,16). Diese Parameter wurden als Einzelwerte aufgefaßt und einer Varianzanalyse unterzogen. Die mittleren Regressionskoeffizienten (mit den entsprechenden Diffusionskonstanten der Substrate) werden graphisch im Säulendiagramm dargestellt. Die feinere Analyse der Ergebnisse mit Hilfe von Modellen wird im Abschnitt 6 dargestellt.

2. Resorption aus Lösungen ohne Zusatz (Kontrollen)

Um einen überblick über die enterale Resorption der untersuchten Substanzen zu geben, sind die Ergebnisse der Kontrollversuche ohne Zusatz in Abbildung 14 dargestellt. Benzoesäure, α- Methyl-D-Glucosid und Antipyrin werden gut resorbiert, wobei die Steilheit ihrer Kurven in der angeführten Reihenfolge abnimmt. Die Kurven sind linear, mit der Tendenz, am Anfang steiler und im Endteil flacher zu verlaufen. Harnstoff und Benzylamin werden weniger gut resorbiert; ihre maximale Resorptionsrate liegt niedriger, und der zeitliche Abfall ist geringer. Das Maximum der Benzylaminresorption wird erst spät, etwa nach 10 Minuten, erreicht, wie die Krümmung der Kurve erkennen läßt.

3. Einfluß von organischen Hydrogelbildnern, Polyethylenglykol 35000 und Polyvinylpyrrolidon auf die Antipyrinresorption

Steigende Konzentrationen von Methylcellulose MH 300 haben nur einen geringen Einfluß auf die enterale Resorption von Antipyrin (Tab.6). Die Resorptionskurven liegen sehr nah beieinander (Abb.15), der Abfall der Resorptionsrate ist am Anfang stärker ausgeprägt. Größere Unterschiede im Kurvenverlauf sind nicht erkennbar und waren auch in der Regressionsanalyse nicht nachweisbar (Tab.15). Der mittlere Regressionskoeffizient der Kontrollkurven ist zwar signifikant größer als die Koeffizienten der anderen Kurven (Abb.18), aber eine Änderung der Regressionskoeffizienten parallel zum zunehmendem MC-Gehalt der Lösung war nicht nachzuweisen (linearer Kontrast nicht signifikant), obwohl die Diffusionskonstante abfiel.

In mehreren Versuchsserien wurde der Einfluß verschiedener Hydrogelbildner sowie von PVP und PEG untersucht. Die Kurven der Kontrollen ohne Zusatz waren fast identisch (kein signifikanter Unterschied in der Regressionsanalyse und der Varianzanalyse der Regressionskoeffizienten), so daß eine größere Kontrollgruppe für den Vergleich gebildet werden konnte (Tab.7). Insgesamt sind die Unterschiede im Kurvenverlauf bei Zusatz der Polymere zur Injektionslösung nicht sehr ausgeprägt (Abb.16 und 17, Tab.8), nur die Resorptionskurve bei Zusatz von Polyethylenglykol 35000 verläuft auffallend flacher, so daß der Regressionskoeffizient besonders klein ist (Abb.19).

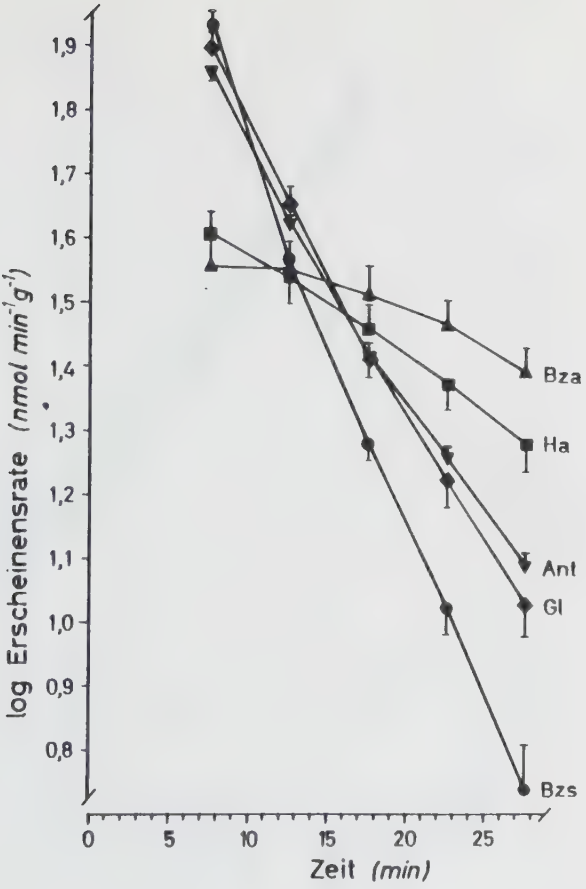


Abb.14: Zeitlicher Verlauf der Resorption von Antipyrin (An), Benzoesäure (Bzs), α-Methyl-D-Glukosid (Gl), Harnstoff (Ha) und Benzylamin (Bza) bei einmaliger Applikation in die abgebundene Jejunumschlinge der Ratte. Initiale Substratkonzentration 1 mmol/l, N = 8.

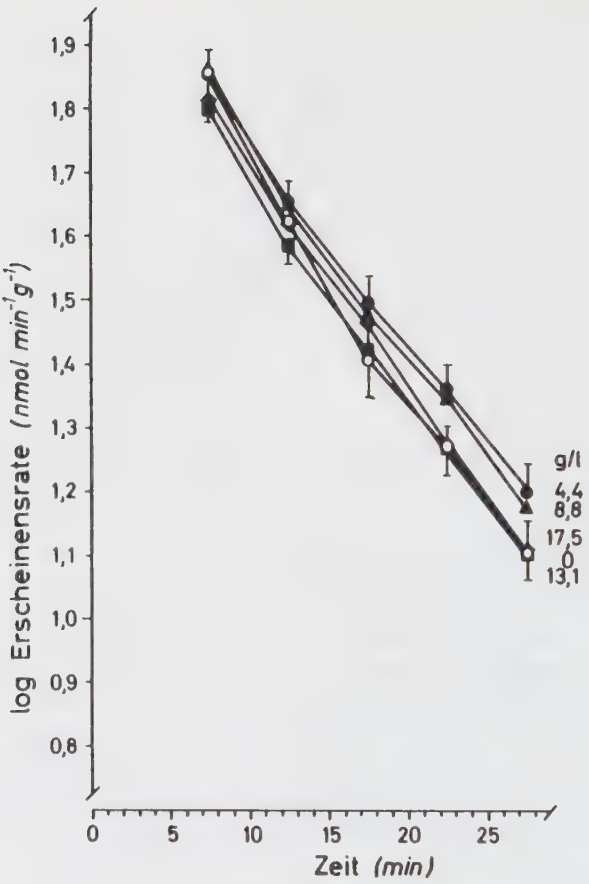


Abb.15: Einfluß steigender Konzentrationen von Methylcellulose MH 300 auf die zeitliche Abhängigkeit der Antipyrinresorption aus der abgebundenen Jejunumschlinge der Ratte. Initiale Antipyrinkonzentration 1 mmol/l, N = 8.

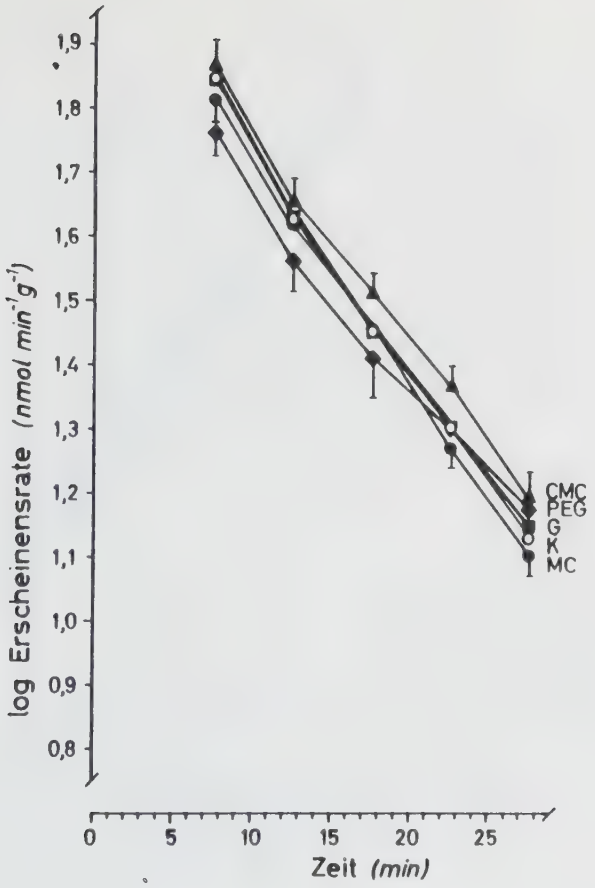


Abb.16: Einfluß von 17,5 g/l Methylcellulose MH 300 (MC), 13,7 g/l Carboxymethylcellulose-Na (CMC), 4,4 g/l Guar (G) und 100,0 g/l Polyethylenglykol 35000 (PEG) auf die zeitliche Abhängigkeit der Antipyrinresorption aus der abgebundenen Jejunumschlinge der Ratte. (Kontrolle ohne Zusatz = K). Initiale Antipyrinkonzentration 1 mmol/l, N = 8.

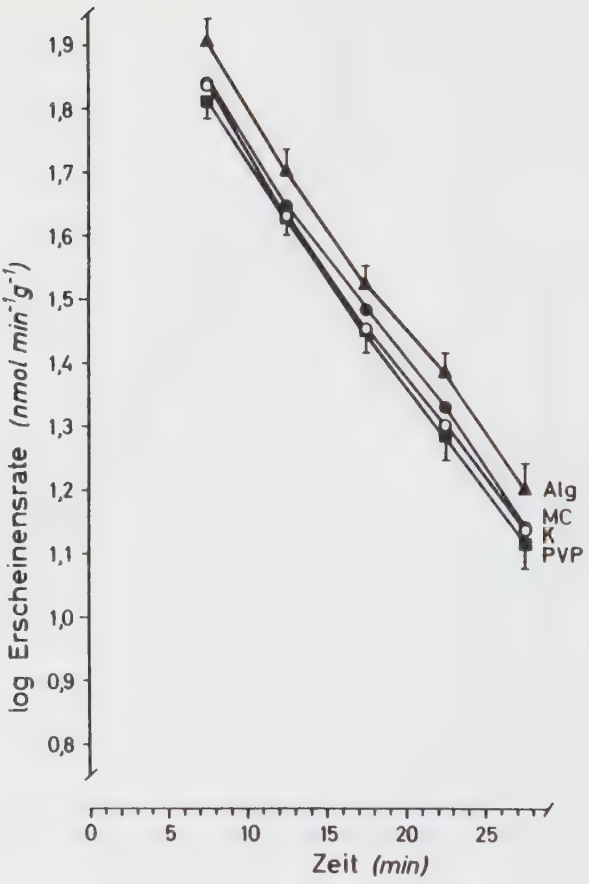
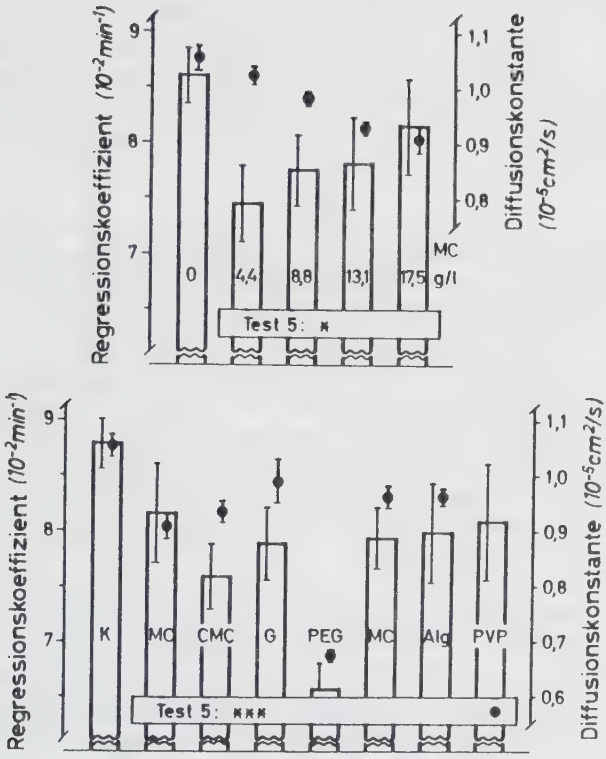


Abb.17: Einfluß von 12,3 g/l Methylcellulose MH 1000 (MC), 11,8 g/l Na-Alginat (Alg) und 120,0 g/l Polyvinylpyrrolidon (PVP) auf die zeitliche Abhängigkeit der Antipyrinresorption aus der abgebundenen Jejunumschlinge der Ratte. (Kontrolle ohne Zusatz = K). Initiale Antipyrinkonzentration 1 mmol/l, N = 8.



oben

Abb.18: Regressionskoeffizienten (Säulen) der Geraden in Abbildung 15 als Maß für die Resorptionsgeschwindigkeit und die zugehörigen Diffusionskonstanten des Antipyrins (Punkte). Test 5: Prüfung, ob zwischen Kontrollgruppen ohne Zusatz und den zusammengefaßten Gruppen mit Zusatz ein Unterschied besteht.

unten

Abb.19: Entsprechende Darstellung für die Geraden in Abbildung 16 und 17.

Die anderen Zusätze reduzierten den Regressionskoeffizienten weniger stark, aber signifikant bei zusammenfassender Prüfung (Tab.15). Die Verringerung des Regressionskoeffizienten durch PEG steht im Einklang mit der stärksten Reduktion der Diffusionskonstanten von Antipyrin. Im Gegensatz dazu steht das Ergebnis mit der PVP-haltigen Lösung, wo ein hoher Regressionskoeffizient einer sehr kleinen Diffusionskonstanten gegenübersteht. Insgesamt gesehen wird die Antipyrinresorption durch hydrophile Polymere etwas vermindert.

Um festzustellen, ob eine weitere Erhöhung der Konzentration der Hydrogelbildner einen deutlicheren Effekt auf die Antipyrinresorption hervorruft, wurde eine Methylcelluloselösung von 32,5 g/l (Viskosität etwa 8000 cSt) und eine Guarlösung von 11 g/l (Viskosität ca. 1400 cSt) verwendet (Tab.9). Diese Lösungen waren so hochviskos, daß sie gerade noch mit der Spritze in eine abgebundene Darmschlinge appliziert werden konnten. Parallel zur Reduktion der Diffusionskonstanten war die Antipyrinresorption aus diesen Lösungen geringer, die Kurven (Abb.20) verlaufen signifikant flacher und die Regressionskoeffizienten (Abb.22) sind signifikant kleiner (Tab.15). Diese Diffusionskonstanten wurden durch lineare Extrapolation aus Abb.43, S.76, erhalten, da eine Messung technisch nicht möglich war.

Um abzuklären, ob der teilweise Ersatz von NaCl gegen Na-Cyclohexansulfamat (NaCHS) einen Einfluß hat, wurde die Antipyrinresorption aus einer NaCHS-freien Lösung ohne und mit 17,5 g/l Methylcellulose MH 300 untersucht (Tab.10). Die Änderung der ionalen Zusammensetzung hatte keine Änderung der Kurvensteilheit zur Folge (Abb.21 und 23). Aber die Verminderung der Resorption durch MC MH 300 (Reduktion der Kurvensteilheit und des Regressionskoeffizienten, Tab.15) war im Falle der NaCHS-freien Lösung größer, entsprechend der stärkeren Reduktion der Diffusionskonstanten.

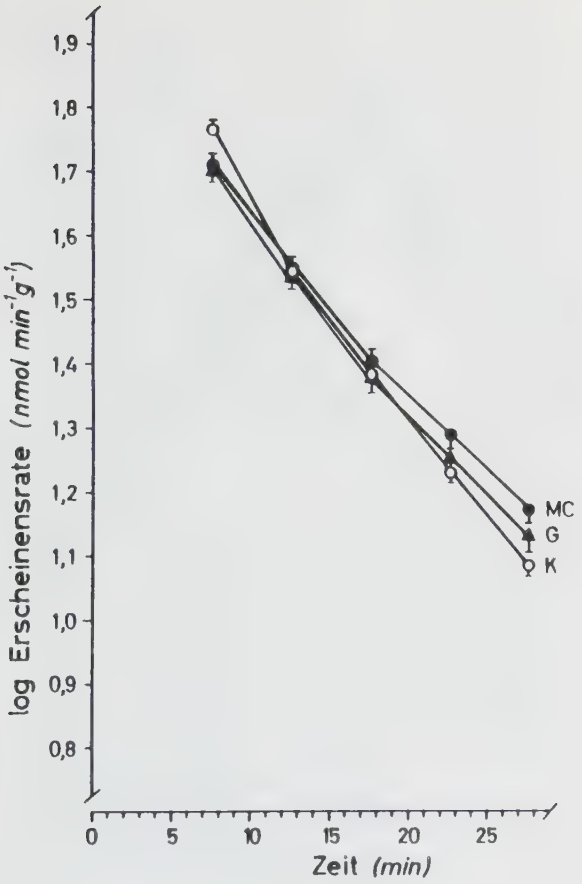


Abb.20: Einfluß einer hohen Konzentration (11,0 bzw. 32,5 g/l) von Guar (G) und Methylcellulose MH 300 (MC) auf die zeitliche Abhängigkeit der Antipyrinresorption aus der abgebundenen Jejunumschlinge der Ratte. Initiale Antipyrinkonzentration 1 mmol/l, N = 8.

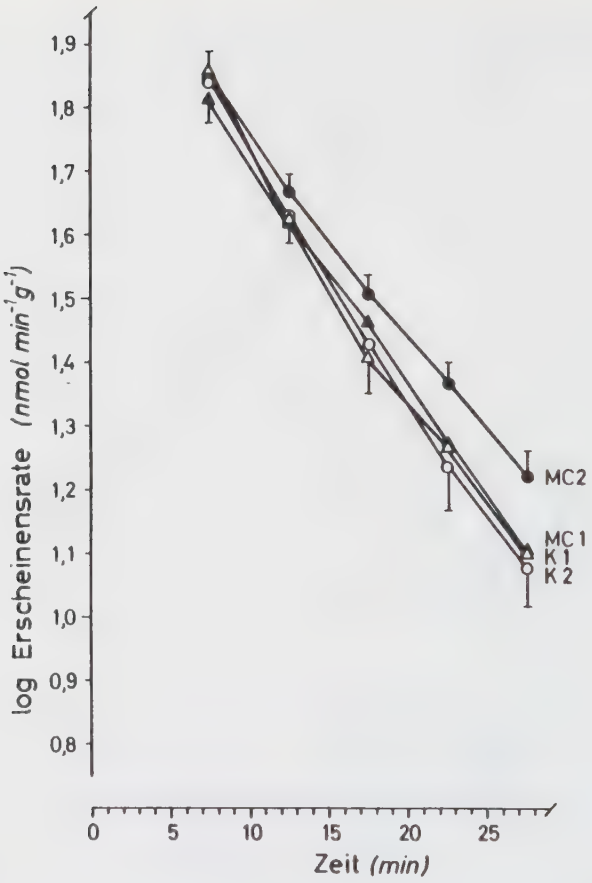
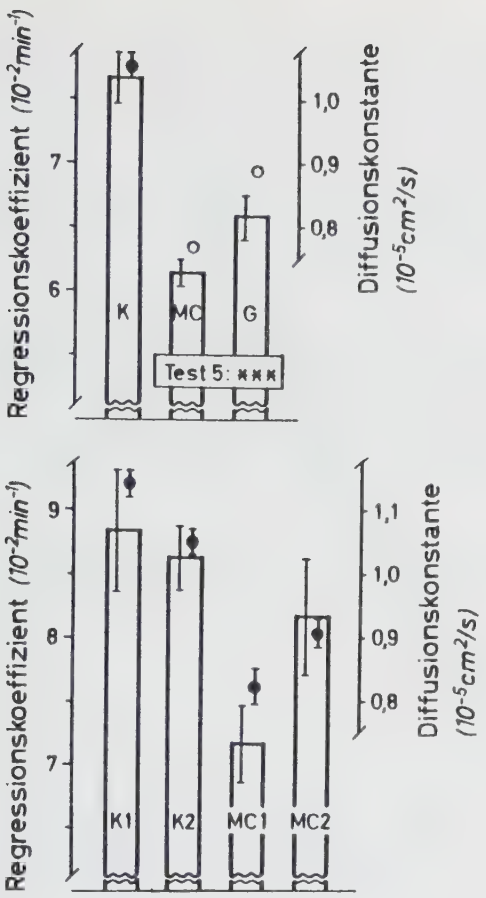


Abb.21: Einfluß von 17,5 g/l Methylcellulose MH 300 auf den zeitlichen Verlauf der Antipyrinresorption aus der abgebundenen Jejunumschlinge der Ratte bei Verwendung eines Puffers ohne (MC2, K2) und mit Na-cyclohexansulfamat (MC1, K1; Kontrollen ohne MC-Zusatz = K1 bzw. K2). Initiale Antipyrinkonzentration 1 mmol/l, N = 8.



oben

Abb.22: Regressionskoeffizienten (Säulen) der Geraden in Abbildung 20 als Maß für die Resorptionsgeschwindigkeit und die zugehörigen Diffusionskonstanten des Antipyrins (Punkte). Test 5: Prüfung, ob zwischen Kontrollgruppen ohne Zusatz und den zusammengefaßten Gruppen mit Zusatz ein Unterschied besteht.

Die Diffusionskonstanten von Antipyrin in Methylcellulose- bzw. Guarlösung (32,5 bzw. 11,0 g/l) wurden durch lineare Extrapolation ermittelt.

unten

Abb.23: Entsprechende Darstellung für die Geraden in Abbildung 21.

4. Einfluß von Methylcellulose, Carboxymethylcellulose, Guar und Polyethylenglykol 35000 auf die Resorption von Benzoesäure, α-Methyl-D-Glucosid, Harnstoff und Benzylamin

Die Benzoesäureresorption wurde durch den Zusatz von Methylcellulose MH 300, Carboxymethylcellulose-Na, Guar und PEG verringert (Tab.11), die Kurven der Erscheinensrate verlaufen flacher (Abb.24) und die Regressionskoeffizienten sind kleiner (Abb.26, Tab.16).

Der Einfluß auf die α-Methyl-D-Glucosid-Resorption ist statistisch nicht eindeutig (Tab.12); während die Regressionsanalyse und der allgemeine Vergleich "ohne / mit Zusätze" signifikante Unterschiede in der Steilheit der Kurven (Abb.25 und 27) anzeigte, ergab der Dunnett-Test der Regressionskoeffizienten keine signifikante Abweichung zur Kontrolle (Tab.16). Die Variabilität war ziemlich groß.

Für Harnstoff (Tab.13) und Benzylamin (Tab.14) konnte kein signifikanter Einfluß der Zusätze auf die Kurven (Abb.28 und 29) und Regressionskoeffizienten (Abb.30 und 31) und damit auf die Resorption festgestellt werden.

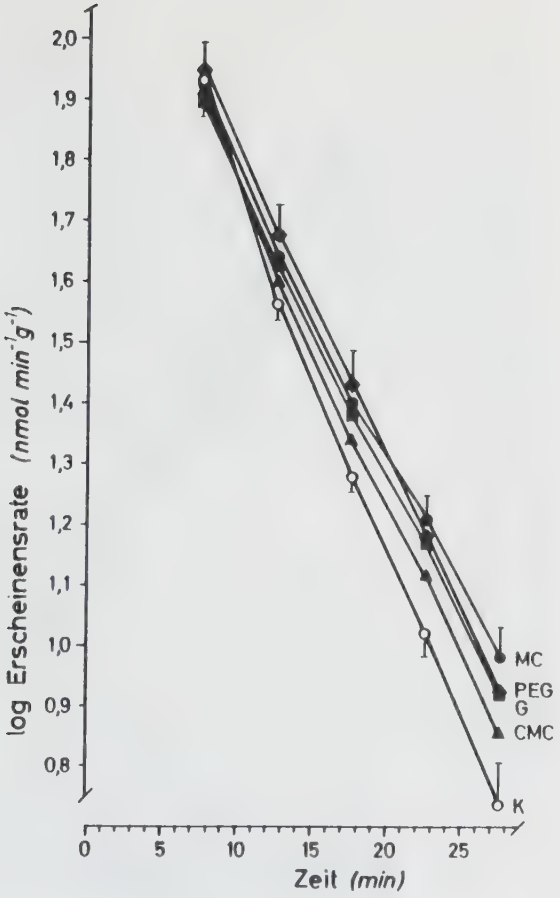


Abb.24: Einfluß von 17,5 g/l Methylcellulose MH 300 (MC), 13,7 g/l Carboxymethylcellulose-Na (CMC), 4,4 g/l Guar (G) und 100,0 g/l Polyethylenglykol 35000 (PEG) auf die zeitliche Abhängigkeit der Benzoesäureresorption aus der abgebundenen Jejunumschlinge der Ratte. Initiale Benzoesäurekonzentration 1 mmol/l, N = 8.

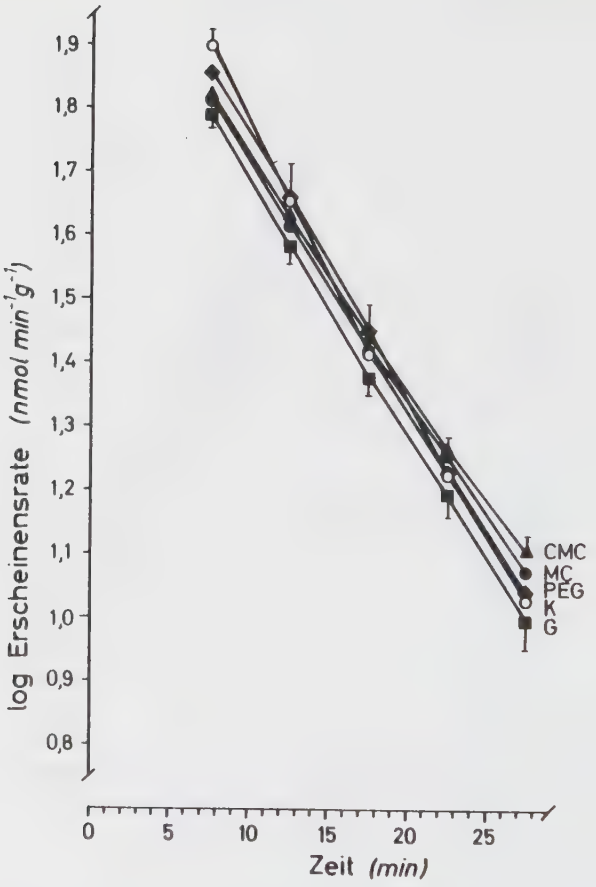
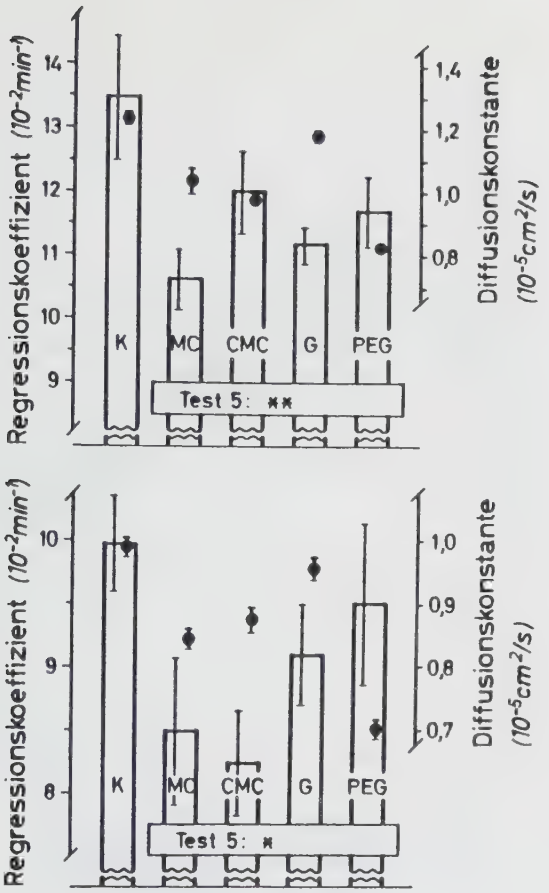


Abb.25: Einfluß von 17,5 g/l Methylcellulose MH 300 (MC), 13,7 g/l Carboxymethylcellulose-Na (CMC), 4,4 g/l Guar (G) und 100,0 g/l Polyethylenglykol 35000 (PEG) auf die zeitliche Abhängigkeit der α-Methyl-D-Glucosidresorption aus der abgebundenen Jejunumschlinge der Ratte. Initiale Glucosidkonzentration 1 mmol/l, N = 8.



oben

Abb.26: Regressionskoeffizienten (Säulen) der Geraden in Abbildung 24 als Maß für die Resorptionsgeschwindigkeit und die zugehörigen Diffusionskonstanten der Benzoesäure (Punkte). Test 5: Prüfung, ob zwischen Kontrollgruppen ohne Zusatz und den zusammengefaßten Gruppen mit Zusatz ein Unterschied besteht.

unten

Abb.27: Entsprechende Darstellung für die Geraden in Abbildung 25 (α-Methyl-D-Glucosid).

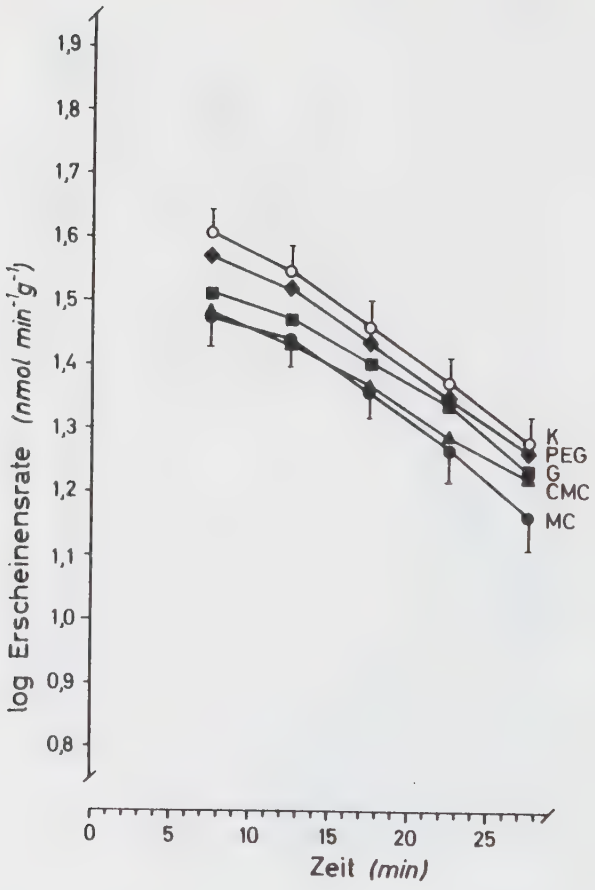


Abb.28: Einfluß von 17,5 g/l Methylcellulose MH 300 (MC), 13,7 g/l Carboxymethylcellulose-Na (CMC), 4,4 g/l Guar (G) und 100,0 g/l Polyethylenglykol 35000 (PEG) auf die zeitliche Abhängigkeit der Harnstoffresorption aus der abgebundenen Jejunumschlinge der Ratte. Initiale Harnstoffkonzentration 1 mmol/l, N = 8.

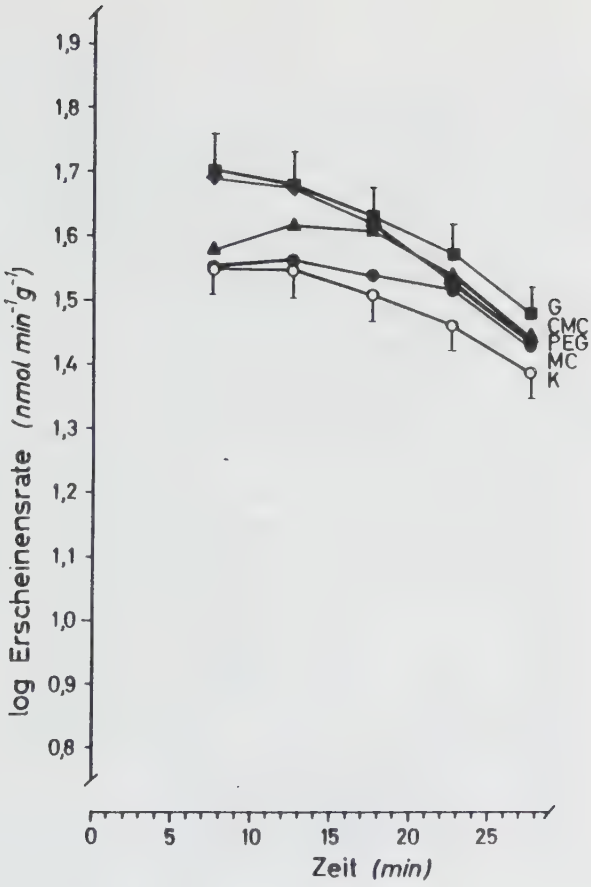
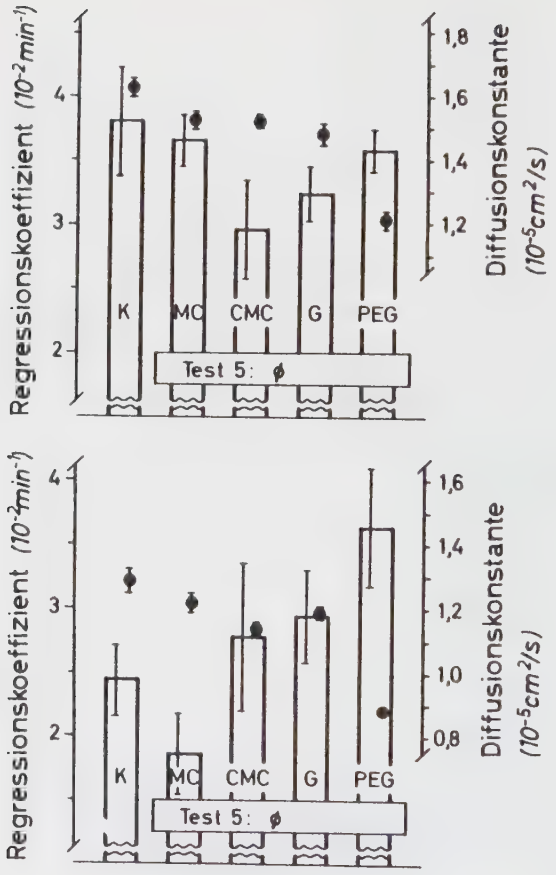


Abb.29: Einfluß von 17,5 g/l Methylcellulose MH 300 (MC), 13,7 g/l Carboxymethylcellulose-Na (CMC), 4,4 g/l Guar (G) und 100,0 g/l Polyethylenglykol 35000 (PEG) auf die zeitliche Abhängigkeit der Benzylaminresorption aus der abgebundenen Jejunumschlinge der Ratte. Initiale Benzylaminkonzentration 1 mmol/l, N = 8.



oben

Abb.30: Regressionskoeffizienten (Säulen) der Geraden in Abbildung 28 als Maß für die Resorptionsgeschwindigkeit und die zugehörigen Diffusionskonstanten des Harnstoffs (Punkte). Test 5: Prüfung, ob zwischen Kontrollgruppen ohne Zusatz und den zusammengefaßten Gruppen mit Zusatz ein Unterschied besteht.

unten

Abb.31: Entsprechende Darstellung für die Geraden in Abbildung 29 (Benzylamin).

5. Wassernettoflux

Um zu klären, ob ein wesentlicher Wassernettoflux bei diesen Resorptionsversuchen vorlag, wurde dieser in separaten Experimenten mit Hilfe der Markierungssubstanz Polyethylenglykol 4000 (^{14}C-markiert) bestimmt (Kapitel Methodik, Abschnitt A III 3). Die auch nach Ausstreifen noch in den Darmschlingen verbliebene Flüssigkeitsmenge verursachte eine Verdünnung des PEG 4000 und täuschte einen Wassernettoflux ins Lumen von 2,3 ± 0,7 µl $min^{-1}g^{-1}$ vor (Tab.17, Abb.32). Die verwendeten Lösungen ohne und mit Polyethylenglykol 35000, Polyvinylpyrrolidon, Na-Alginat, Methylcellulose MH 300, Guar und Carboxymethylcellulose-Na riefen einen geringen Wassernettoflux (unkorrigiert) von 2,5 - 12,7 µl $min^{-1}g^{-1}$ ins Lumen hervor, wobei der Nettoflux bei der PEG 35000-Lösung am geringsten und bei der CMC-Na-Lösung am größten war. Ohne Zusatz betrug der Nettoflux 7,5 ± 2,3 µl $min^{-1}g^{-1}$. Der Vergleich der Wassernettofluxe mit der Kontrolle ohne Zusatz ergab keine signifikanten Unterschiede. Damit kann gefolgert werden, daß der Zusatz von Hydrogelbildnern, Polyvinylpyrrolidon und Polyethylenglykol 35000 in den Versuchen hier keine wesentliche Änderung des Wassernettofluxes hervorrief.

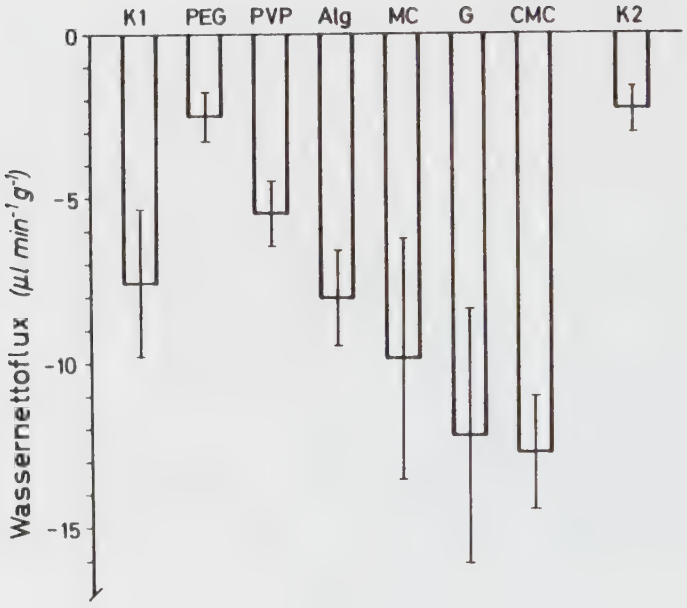


Abb.32: Der Einfluß von Polyethylenglykol 35000 (100,0 g/l), Polyvinylpyrrolidon (120,0 g/l), Na-Alginat (11,8 g/l), Methylcellulose MH 300 (17,5 g/l), Guar (4,4 g/l) und Carboxymethylcellulose-Na (13,7 g/l) auf den Wassernettoflux (negativ ins Lumen gerichtet) in der abgebundenen Jejunumschlinge der Ratte, Versuchsdauer 30 min; K1 = Kontrolle ohne Zusatz, K2 = Versuchsdauer 1 min, je 2 Versuche mit den oben genannten Lösungen, Ergebnisse zusammengefaßt. N = 8, bei K2 N = 14.

6. Modellanalyse

6.1 Einführung

Eine feinere Analyse der Ergebnisse wurde mit Hilfe von Modellen durchgeführt, die die Kinetik der Resorption berücksichtigen. Das Modell A ist das bekannte 1-Kompartimentmodell für die Situation der einmaligen Applikation einer Substanzmenge und der Resorption proportional zu der gerade am Applikationsort vorhandenen Menge (Abb.33). Die Resorptionsgeschwindigkeit wird durch die Invasionskonstante k (first order absorption rate constant) charakterisiert. Übertragen auf die abgebundene Darmschlinge kann die in das Lumen injizierte Substanzlösung als Kompartiment aufgefaßt werden. Bei konstantem intraluminalem Volumen ist dann die Resorption proportional der mittleren luminalen Konzentration. Damit wird eine perfekte Durchmischung im Lumen, d.h. im Kompartiment, angenommen. Wird das Lumen der Darmschlinge vereinfacht als rectangulärer Zylinder aufgefaßt, wobei nur der Mantel als resorbierende Fläche angesehen wird, kann ein Permeabilitätskoeffizient P_T eingeführt werden (siehe Anhang), wobei $k = 2P_T/R$ ist. Dieser Koeffizient ist der Kehrwert des totalen Resorptionswiderstandes bei der Permeation einer Substanz aus dem Darmlumen ins Blut (präepithelialer Widerstand oder unstirred layer + Epithel + subepitheliales Gewebe + Kapillaren). Der totale Permeationswiderstand R_T kann in den präepithelialen Diffusionswiderstand R_1 und den Restwiderstand R_2 geteilt werden:

Gl.(4) $$R_T = R_1 + R_2 = \frac{1}{P_T} = \frac{1}{P_1} + \frac{1}{P_2}$$

Da die Erscheinensrate zeitlich variabel ist und experimentell nur der Mittelwert über das Zeitintervall $t_2 - t_1$ (min) bestimmt werden kann, wird die integrierte Form der Gleichung (A 8) im Anhang für die Modellanalyse verwendet (Ableitung siehe Anhang):

Gl.(5) $$\bar{\phi} = \frac{1}{t_2 - t_1} \int_{t_1}^{t_2} \phi \, dt = \frac{C_0 \, V}{W(t_2 - t_1)} \left[e^{-120 \, P_T \, t_1/R} - e^{-120 \, P_T \, t_2/R} \right]$$

$\bar{\phi}$	Erscheinensrate in Darmvenenblut	(nmol $min^{-1}g^{-1}$)
C_0	luminale Anfangskonzentration	(nmol / ml)
V	Injektionsvolumen	(ml)

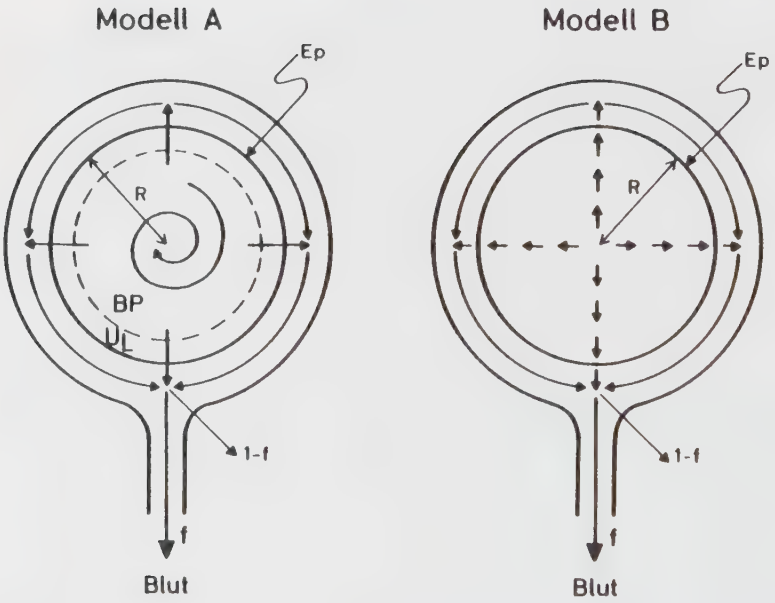


Abb.33: Schema der Modelle für die biometrische Analyse der Resorptionsdaten (ausführliche Erläuterung im Text).
Modell A: BP = gut durchmischte Phase (bulk phase), UL = nicht durchmischte Grenzschicht (unstirred layer), R = intraluminaler Radius, Ep = Epithel, f bzw. 1-f = Fraktion des resorbierten Substrates, das im Blut bzw. nicht im Blut erscheint. Modell B: keine intraluminale Durchmischung, sondern radiale Diffusion des Substrats.

W	Darmfeuchtgewicht	(g)
P_T	Permeabilitätskoeffizient für den Permeationsweg Darmlumen - Blut	(cm / s)
R	intraluminaler Radius	(cm)
t	Zeit	(min)

Mit dem Faktor f wird berücksichtigt, daß im Blut nur ein Teil der permeierenden Substanzmoleküle erscheint (Modellmodifikation Af):

$$\text{Gl.(6)} \quad \phi = \frac{C_0 \, V}{W(t_2 - t_1)} \; f \left[e^{-120 \, P_T \, t_1 / R} - e^{-120 \, P_T \, t_2 / R} \right]$$

Der andere Teil permeiert zur Serosaseite und tritt dort aus (74,109).

Bei der abgebundenen Darmschlinge herrscht unter experimentellen Bedingungen keine Konvektion im Darmlumen. Der intraluminale Transport zur Mukosaoberfläche erfolgt ausschließlich durch Diffusion. Dieser präepitheliale Diffusionswiderstand wird in der Regel als "unstirred layer" bezeichnet. Durch Zusatz von Hydrogelbildnern wird die Diffusion kleinerer Moleküle behindert, so daß ein größerer präepithelialer Diffusionswiderstand resultiert. Wird nun gegenüber Modell A das Darmlumen nicht als "gut durchmischt" betrachtet, sondern die radiale Diffusion explizit in der Resorptionsgleichung berücksichtigt, erhält man (s.Anhang):

$$\text{Gl.(7)} \quad \phi = \frac{C_0 \, V}{W(t_2 - t_1)} \; 4 \, L^2 \sum_{n=1}^{\infty} \frac{e^{-60 \, \beta_n^2 \, Dt_1 / R^2} - e^{-60 \, \beta_n^2 \, Dt_2 / R^2}}{\beta_n^2 \, (\beta_n^2 + L^2)}$$

mit $L = P_2 \, R / D$

und β_n^2 = Wurzeln der Gleichung $L J_0(\beta_n) = \beta_n J_1(\beta_n)$

P_2	Permeabilitätskoeffizient für den Permeationsweg Mukosaoberfläche - Blut (cm / s)
D	Diffusionskonstante des Substrates in der luminalen Lösung (cm^2 / s)
J_0, J_1	Besselfunktionen nullter und erster Ordnung

Der Permeabilitätskoeffizient P_2 ist hier der Kehrwert des Resorptionswiderstandes der Schicht zwischen Mukosaoberfläche und Blut. Dieser Koeffizient enthält im Gegensatz zu P_T nicht die Diffusion im

Darmlumen. Damit sollte dieser Koeffizient sich nicht ändern, wenn durch Zusatz von Hydrogelbildnern der intraluminale Diffusionskoeffizient der Substrate vermindert wird. Mit dem Faktor f wird berücksichtigt, daß im Blut nicht die gesamte permeierende Substanzmenge erscheint (Modellmodifikation Bf):

$$\text{Gl.(8)} \quad \phi = \frac{C_0 \, V}{W(t_2 - t_1)} \; 4 \, L^2 \, f \sum_{n=1}^{\infty} \frac{e^{-60 \, \beta_n^2 \, Dt_1/R^2} - e^{-60 \, \beta_n^2 \, Dt_2/R^2}}{\beta_n^2 \, (\beta_n^2 + L^2)}$$

Zur Modellanalyse wurden die Gleichungen 5 - 8 an die experimentellen Daten angepaßt (Kapitel Methodik, Abschnitt H 6), wobei P_T, P_T und f, P_2 bzw. P_2 und f die zu bestimmenden Parameter waren. In der Modellmodifikation Br wurde neben P_2 auch der intraluminale Radius R als Unbekannte aufgefaßt (eine analoge Modellmodifikation Ar ist nicht möglich, da nur der Quotient P_T/R in Gleichung 5 und 6 eingeht). In der Modifikation Bfr waren P_2, f und R die zu bestimmenden Parameter.

6.2 Allgemeine Ergebnisse der Modellanalyse

Abb.(34) zeigt die Kurven für die Erscheinensrate im Darmvenenblut im halblogarithmischen Diagramm, gemäß den Gleichungen 6 und 8. Für Modell A bzw. Af wird entsprechend der Exponentialfunktion des 1-Kompartimentmodells eine Gerade (Kurve 1) vorausgesagt. Für Modell B bzw. Bf erhält man eine Kurve, die, vom gleichen Punkt auf der Ordinate ausgehend, konvex nach unten gekrümmt ist und in eine flachere Gerade ausläuft (Kurve 2). Der Vergleich mit den Abbildungen 15,16,17,20,21,24,25 zeigt, daß viele experimentelle Kurven diese Krümmung aufweisen. Die Form der Kurve 2 ist durch die fehlende Durchmischung des Darmlumens bedingt. Die Anfangssituation ist bei beiden Modellen gleich: Gleiche Konzentrationen im gesamten Darmlumen. Daher ist der Ausgangspunkt beider Kurven derselbe. Die Resorption führt gemäß Modell B wegen der endlichen intraluminalen Diffusionsgeschwindigkeit zu einem Absinken der Konzentration an der Mukosaoberfläche und damit zu einem stärkeren Abfall der Erscheinensrate als beim Modell A, wo eine ständige Durchmischung vorausgesetzt wird. Da die intraluminale Diffusion einen zusätzlichen Permeationswiderstand darstellt, ist die Resorptionsrate im Modell B geringer als im Modell A. Darum läuft Kurve 2 in einem flacheren Endwert aus.

Die Anpassung von Modell Af an die Daten war in allen Fällen signifikant besser als die Anpassung von Modell A. Daher sind in den Tabellen

nur die Parameter von Modell Af aufgelistet. Der Permeabilitätskoeffizient P_T spiegelt die Resorbierbarkeit der Substanzen Benzoesäure, α-Methyl-D-Glucosid, Antipyrin, Benzylamin und Harnstoff wieder: 2,53 ; 1,72 ; 1,57 ; 0,68 und 0,67 x 10^{-4} cm / s. Der Faktor f betrug (gleiche Reihenfolge): 0,83 ; 1,09 ; 0,84 ; 1,03 und 0,80.

Beim Modell B konvergierten die Rechnungen zur Modifikation Br nicht für die Daten von Benzylamin und α-Methyl-D-Glucosid. Die Modifikationen Bf und Br waren hinsichtlich der Anpassung an die experimentellen Daten dem Grundmodell B überlegen, aber untereinander gleichwertig. Die Modifikation Bfr brachte keine weitere Verbesserung der Anpassung. Die aus Modell Bf bzw. Br für den Permeabilitätskoeffizienten P_2 erhaltenen Werte sind größer als die P_T-Werte aus Modell Af. Dieses ist verständlich, da P_2 einen kleineren Permeationsweg charakterisiert. Der Faktor f wurde im Modell Bf größer, zum Teil über 1, bestimmt. Modell Br lieferte im allgemeinen kleinere Werte für den intraluminalen Radius, als experimentell in situ bestimmt wurden. Es kann nicht unterschieden werden, ob ein systematischer Fehler bei der in situ Messung zu hohe Werte oder ob die Kurvenanpassung (soweit Rechnungen zu beiden Modellen konvergierten) fehlerhaft zu kleine Werte lieferte.

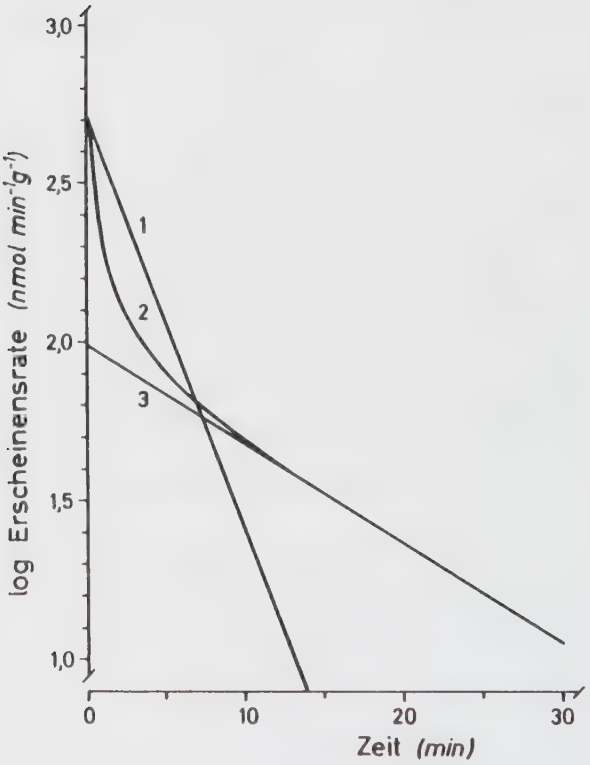


Abb.34: Zeitliche Abhängigkeit der Erscheinensrate im Darmvenenblut bei einmaliger Applikation von 0,5 µmol Substrat in eine abgebundene Darmschlinge. Theoretische Kurven nach Modell Af (Kurve 1) und Modell Bf (Kurve 2). Kurve 3: lineare Extrapolation des auslaufenden Astes der Kurve 2 zur Ordinate. Berechnet mit Hilfe von Gleichung (6) und (8) mit P_T bzw. $P_2 = 5 \times 10^{-4}$ cm/s, f = 1, $D = 1 \times 10^{-5}$ cm^2/s, R = 0,2 cm, C_0 = 1mmol/l, V_0 = 500 µl und W = 0,3 g.

6.3 Spezielle Ergebnisse der Modellanalyse

Der Zusatz von Methylcellulose MH 300 verminderte den Permeabilitätskoeffizienten P_T nach Modell A unabhängig von der Konzentration der MC (Abb.35, Tab.18), während die Diffusionskonstante linear mit dem MC-Gehalt abnahm. Entgegen den theoretischen Erwartungen wurden aus Modell Br für die Methylcellulosekonzentration von 8,8 g/l und größer im Vergleich zur Kontrolle kleinere Permeabilitätskoeffizienten P_2 errechnet. Auch die Zugabe der anderen Hydrogelbildner und von Polyethylenglykol 35000 und Polyvinylpyrrolidon führte zu niedrigeren Permeabilitätskoeffizienten P_T und P_2 (Tab.19, Abb.36). Eine sehr hohe Konzentration von MC und Guar (Abb.37, Tab.20) reduzierte den Koeffizienten P_T, während nach Modell Br gemäß den theoretischen Erwartungen P_2 nicht geändert wurde. Der Zusatz von NaCHS zu der Pufferlösung bzw. von Methylcellulose MH 300 zu beiden Arten von Lösungen verminderte den Permeabilitätskoeffizienten P_T, während Modell Br keine signifikanten Unterschiede für den Koeffizienten P_2 ergab (Tab.21, Abb.38).

Der Zusatz von Polymeren verminderte auch für Benzoesäure den Permeabilitätskoeffizienten P_T nach Modell Af (Tab.22, Abb.39). Das Modell Bf lieferte so hohe Werte für P_2, daß sie in Anbetracht der großen Standardfehler für die Auswertung nicht verwendbar sind. Das heißt, der Permeationswiderstand der Schicht zwischen Mukosaoberfläche und Blut ist sehr gering und kann von 0 nicht unterschieden werden. Aus Modell Br wurden sehr unterschiedliche Koeffizienten P_2 mit zum Teil großem Standardfehler errechnet, so daß auch hier eine Beurteilung nicht möglich ist.

Die Anwesenheit von Hydrogelbildnern verminderte den Permeabilitätskoeffizienten P_T für α-Methyl-D-Glucosid (Tab.23, Abb.40). Wie bei Benzoesäure lieferte Modell Bf hohe Werte für P_2 und bei den Rechnungen zu Modell Br trat keine Konvergenz auf.

Die Permeabilitätskoeffizienten P_T und P_2 für Harnstoff und Benzylamin wurden durch die Hydrogelbildner sowie PEG und PVP nicht verändert (Tab.24 und 25, Abb.41 und 42).

7. Zusammenfassung

Die Resorption der gut permeablen Substanzen Antipyrin, Benzoesäure und α-Methyl D-Glucosid aus der abgebundenen Jejunumschlinge bei einmaliger Applikation wird durch den Zusatz hydrophiler Polymere zur Injektionslösung vermindert. Dagegen ist die Resorption der weniger gut permeablen Substanzen Harnstoff und Benzylamin unverändert.

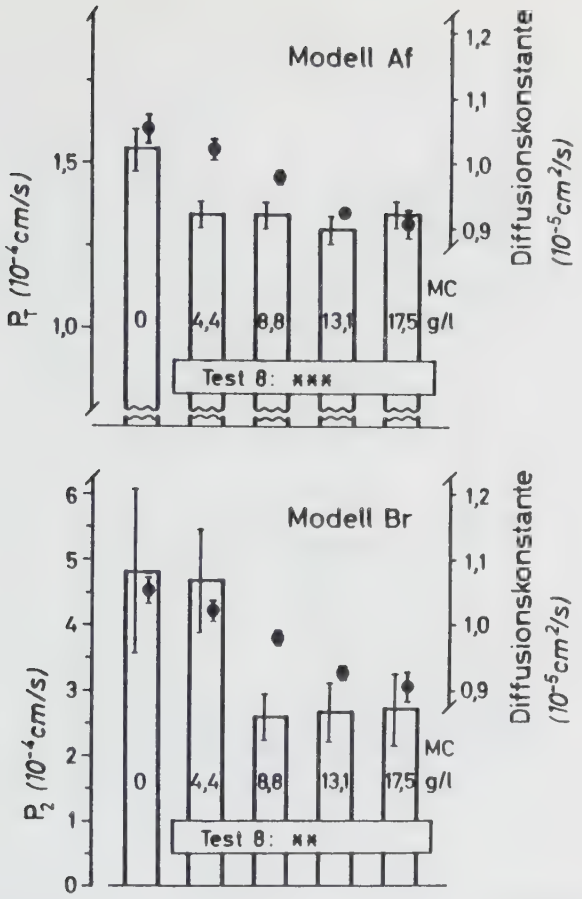


Abb.35: Einfluß steigender Konzentrationen von Methylcellulose MH 300 auf die Antipyrinresorption.

oben

Permeabilitätskoeffizient P_T (Säulen), berechnet aus Modell Af für die Kurven in Abbildung 15 und die zugehörigen Diffusionskonstanten des Antipyrins (Punkte). Test 8: Prüfung auf Unterschied zwischen Kontrolle und den Gruppen mit Polymerzusatz.

unten

Entsprechende Darstellung für den Permeabilitätskoeffizienten P_2, berechnet aus Modell Br.

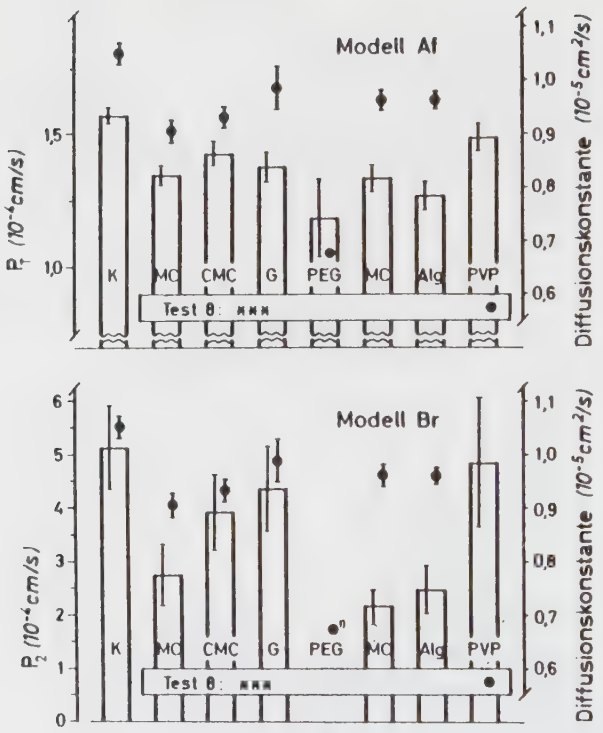


Abb.36: Einfluß von Polymeren auf die Antipyrinresorption.

oben

Permeabilitätskoeffizient P_T (Säulen), berechnet aus Modell Af für die Kurven in Abbildung 16 und 17 und die zugehörigen Diffusionskonstanten des Antipyrins (Punkte). Test B: Prüfung auf Unterschied zwischen Kontrolle und den Gruppen mit Polymerzusatz.

unten

Entsprechende Darstellung für den Permeabilitätskoeffizienten P_2, berechnet aus Modell Br.

1) Rechnung nicht konvergiert.

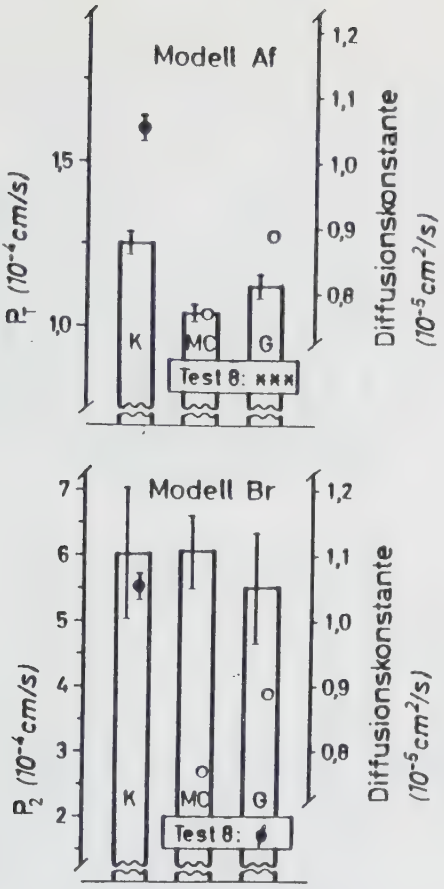


Abb.37: Einfluß einer hohen Konzentration von Guar und Methylcellulose auf die Antipyrinresorption.

oben

Permeabilitätskoeffizient P_T (Säulen), berechnet aus Modell Af für die Kurven in Abbildung 20 und die zugehörigen Diffusionskonstanten des Antipyrins (Punkte). Test 8: Prüfung auf Unterschied zwischen Kontrolle und den Gruppen mit Polymerzusatz.

unten

Entsprechende Darstellung für den Permeabilitätskoeffizienten P_2, berechnet aus Modell Br.

Die Diffusionskonstanten von Antipyrin in Methylcellulose- bzw. Guarlösung (32,5 bzw. 11,0 g/l) wurden durch lineare Extrapolation ermittelt.

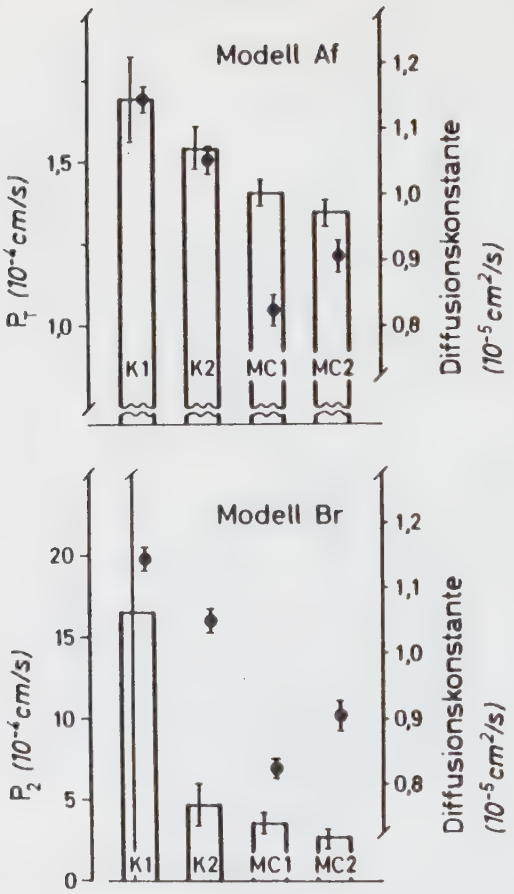


Abb.38: Einfluß von von Na-cyclohexansulfamat und Methylcellulose MH 300 auf die Antipyrinresorption.

oben

Permeabilitätskoeffizient P_T (Säulen), berechnet aus Modell Af für die Kurven in Abbildung 21 und die zugehörigen Diffusionskonstanten des Antipyrins (Punkte). Test B: Prüfung auf Unterschied zwischen Kontrolle und den Gruppen mit Polymerzusatz.

unten

Entsprechende Darstellung für den Permeabilitätskoeffizienten P_2, berechnet aus Modell Br.

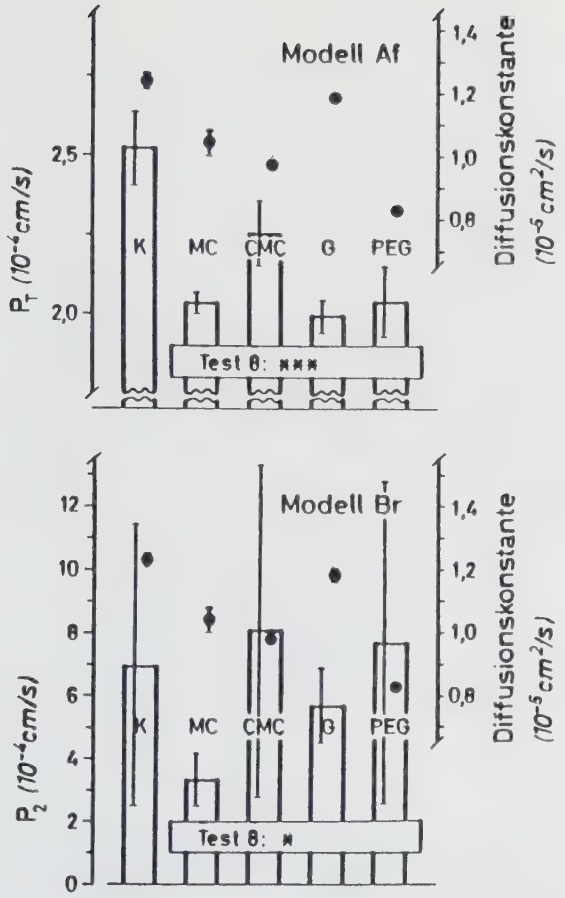


Abb.39: Einfluß von Polymeren auf die Benzoesäureresorption.

oben

Permeabilitätskoeffizient P_T (Säulen), berechnet aus Modell Af für die Kurven in Abbildung 24 und die zugehörigen Diffusionskonstanten der Benzoesäure (Punkte). Test 8: Prüfung auf Unterschied zwischen Kontrolle und den Gruppen mit Polymerzusatz.

unten

Entsprechende Darstellung für den Permeabilitätskoeffizienten P_2, berechnet aus Modell Br.

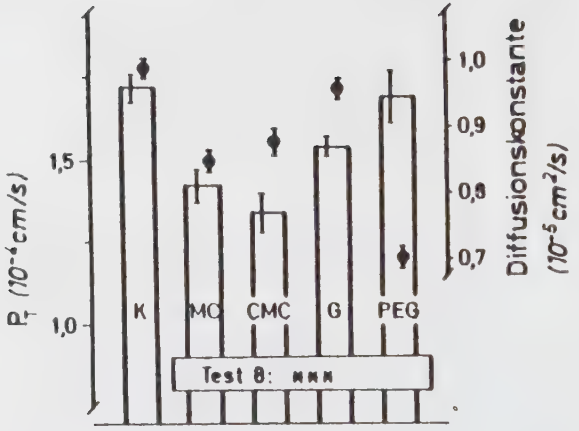


Abb.40: Einfluß von Polymeren auf die α-Methyl-D-Glucosidresorption. Permeabilitätskoeffizient P_T (Säulen), berechnet aus Modell Af für die Kurven in Abbildung 25 und die zugehörigen Diffusionskonstanten des α-Methyl-D-Glucosids (Punkte). Test 8: Prüfung auf Unterschied zwischen Kontrolle und den Gruppen mit Polymerzusatz.

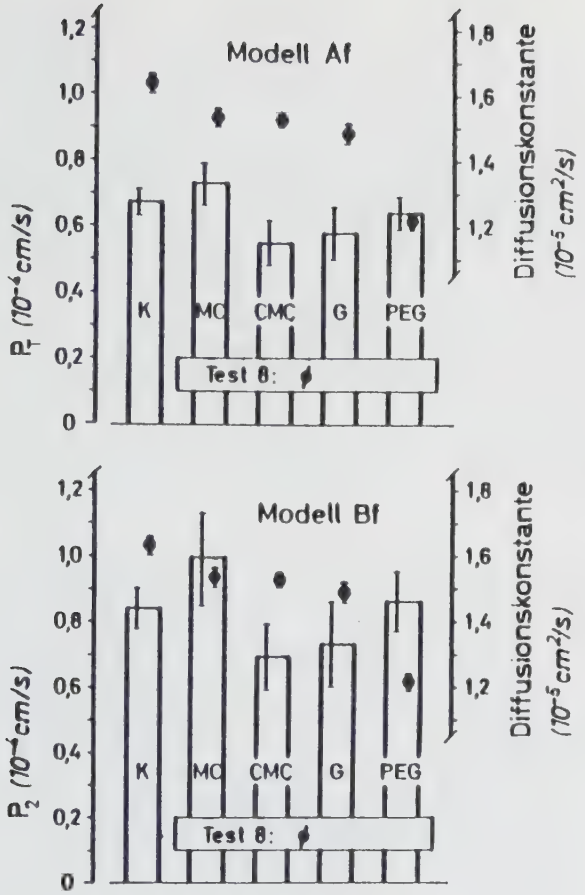


Abb.41: Einfluß von Polymeren auf die Harnstoffresorption.
oben
Permeabilitätskoeffizient P_T (Säulen), berechnet aus Modell Af für die Kurven in Abbildung 28 und die zugehörigen Diffusionskonstanten des Harnstoffs (Punkte). Test 8: Prüfung auf Unterschied zwischen Kontrolle und den Gruppen mit Polymerzusatz.

unten
Entsprechende Darstellung für den Permeabilitätskoeffizienten P_2, berechnet aus Modell Bf.

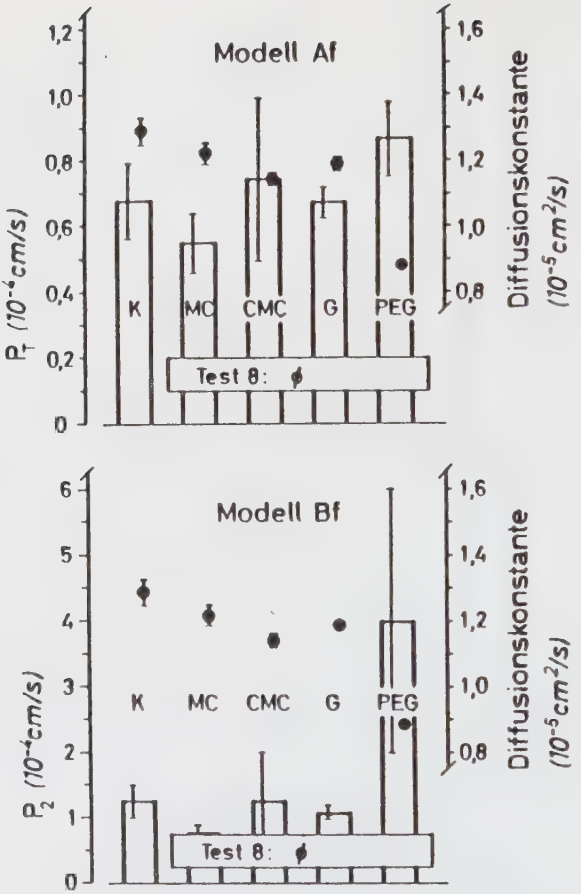


Abb.42: Einfluß von Polymeren auf die Benzylaminresorption.

oben

Permeabilitätskoeffizient P_T (Säulen), berechnet aus Modell Af für die Kurven in Abbildung 29 und die zugehörigen Diffusionskonstanten des Benzylamins (Punkte). Test 8: Prüfung auf Unterschied zwischen Kontrolle und den Gruppen mit Polymerzusatz.

unten

Entsprechende Darstellung für den Permeabilitätskoeffizienten P_2, berechnet aus Modell Bf.

C. Nebenuntersuchungen

1. Einfluß hydrophiler Polymere auf die Diffusionskonstante von Antipyrin, Benzoesäure, α-Methyl-D-Glucosid, Harnstoff und Benzylamin

Der präepitheliale Diffusionswiderstand für eine permeierende Substanz ist proportional der Dicke der Grenzschicht und umgekehrt proportional der Diffusionskonstanten (17,103). Daher wurde diese für sämtliche Substanzen in allen verwendeten Lösungen gemessen.

Die Diffusionskonstante von Antipyrin fällt linear und mit steigenden Konzentrationen von Methylcellulose MH 300 und MH 1000 ab (Abb.43, Tab.26), wobei MC MH 1000 eine stärkere Abnahme der Diffusionskonstanten verursacht (Kurve 2). Der teilweise Ersatz von NaCl durch Natriumcyclohexansulfamat führt zu einer kleineren Diffusionskonstanten und ihr Abfall bei steigenden Konzentrationen von MC MH 300 ist geringer (Kurve 3).

In den Lösungen mit Zusatz von Guar, Carboxymethylcellulose-Na und Methylcellulose MH 300 (Viskosität ca. 100 cSt) sind die Diffusionskonstanten von Antipyrin, α-Methyl-D-Glucosid, Benzoesäure, Benzylamin und Harnstoff kleiner als in Lösungen ohne Zusatz (Abb.44, Tab.27), am kleinsten in der Polyethylenglykol 35000-Lösung (Viskosität ca. 15 cSt). Dabei verläuft der Einfluß der viskositätserhöhenden Substanzen auf die Diffusionskonstante nicht vollständig parallel (s. Abb.44); aber die generelle Tendenz ist bei allen Substraten gleich. (Rangvarianzanalyse nach Friedman χ^2 = 31,64; P < 0,001, Kendall's Konkordanzkoeffizient = 0,83, χ^2 = 16,64; 0,01 > P > 0,001). In der Polyvinylpyrrolidonlösung (Viskosität ca. 3,5 cSt) ist die Diffusionskonstante von Antipyrin ebenfalls niedrig (Tab.27).

2. Dialyse der Polymerlösungen

Um etwaige Wechselwirkungen zwischen den Substraten und den hochmolekularen Gelbildnern in Form einer Adsorption zu erfassen, wurde mit jeder verwendeten Lösung eine Gleichgewichtsdialyse durchgeführt. In Tabelle 28 sind die mittleren Konzentrationsquotienten (Lösung ohne / Lösung mit Polymerzusatz) zusammengefaßt. Auffällig ist die Anreicherung des Kations Benzylamin in der anionischen Carboxymethylcelluloselösung (11X). Dagegen erreicht die anionische Benzoesäure eine geringere Konzentration (-10X) in dieser Lösung. Bei den anderen Substraten ist keine oder nur eine geringe Wechselwirkung zu erkennen.

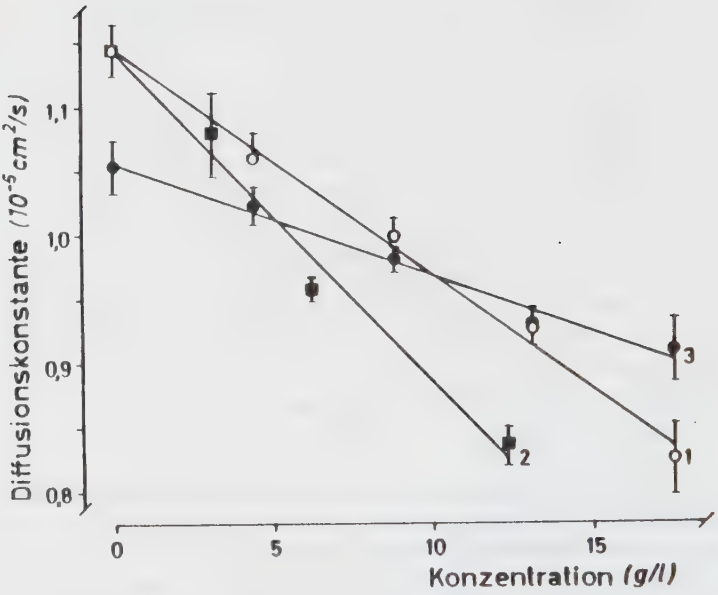


Abb.43: Konzentrationsabhängigkeit der Antipyrindiffusionskonstante von der Polymerkonzentration.
Kurve 1: Methylcellulose MH 300 in Pufferlösung 1 (ohne Na-cyclohexansulfamat).
Kurve 2: Methylcellulose MH 1000 in Pufferlösung 1.
Kurve 3: Methylcellulose MH 300 in Pufferlösung 2 (mit Na-cyclohexansulfamat).
Antipyrinkonzentration 1 mmol/l; N = 7 - 9.

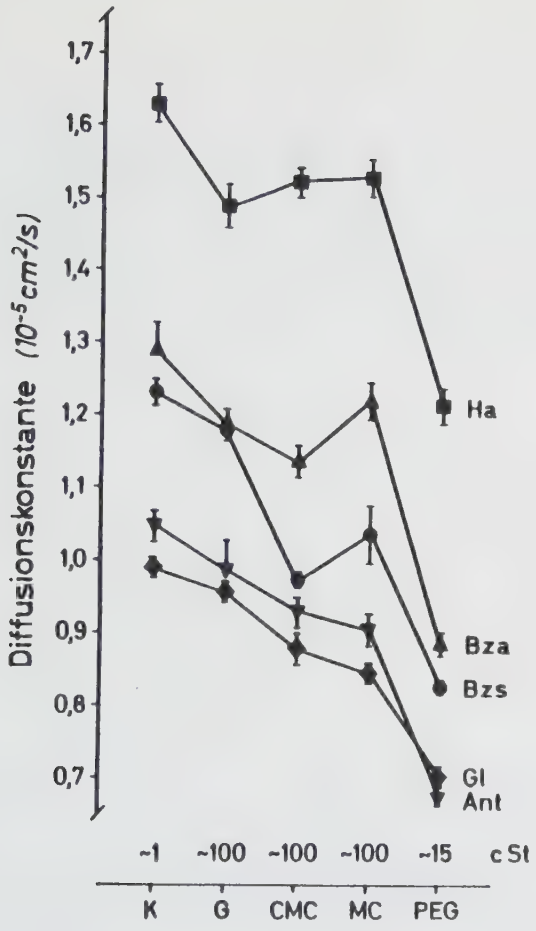


Abb.44: Diffusionskonstanten in verschiedenen Polymerlösungen. Ha = Harnstoff, Bza = Benzylamin, Bzs = Benzoesäure, Gl = α-Methyl-D-Glucosid, Ant = Antipyrin. G = 4,4 g/l Guar, CMC = 13,7 g/l Carboxymethylcellulose-Na, MC = 17,5 g/l Methylcellulose MH 300, PEG = 100,0 g/l Polyethylenglykol 35000 in Pufferlösung 2 (mit Na-cyclohexan-sulfamat). K = Kontrolle ohne Zusatz. Substratkonzentration 1 mmol/l, N = 4 - 9.

3. Kolloidosmotischer Druck der Hydrogelbildner

Da der Einfluß der Hydrogelbildner auf den Wassernettoflux im Darm über den kolloidosmotischen Druck nicht auszuschließen ist, wurde dieser in den Lösungen gemessen (Tab.1). Der onkotische Druck betrug maximal 16 mm Hg (zum Vergleich: Rattenplasma 20 mm Hg-Säule). Die Messung des Wassernettofluxes (Abschnitt B 5) zeigte, daß ein onkotischer Druck im Darmlumen in dieser Höhe keine wesentliche Wirkung auf die transmucosale Wasserbewegung hat.

Tab.1:

		mm Hg-Säule
MC MH 300	17,5 g/l	16,06 ± 1,53
CMC	13,7 "	13,56 ± 0,34
Guar	4,4 "	0,00 ± 0,03
MC MH 1000	12,3 "	5,50 ± 0,20
Na-Alg.	11,8 "	15,40 ± 0,19
Guar	6,0 "	- 0,20 ± 0,28
Rattenplasma		20,08 ± 0,16

4. Viskosität der Polymerlösungen

In Tabelle 29 sind die Werte für die kinematische Viskosität (cSt) aufgelistet, die sich für die bei den Diffusionsmessungen verwendeten Lösungen ergaben. Die Viskositätsmeßwerte der Lösungen für die Resorptionsversuche sind den Tabellen 6 - 14, 2 und 5 zu entnehmen. Die Konzentrationen der Hydrogelbildner waren so gewählt, daß sich jeweils eine Viskosität von etwa 100 cSt ergab. Bei der Polyethylenglykol- und der Polyvinylpyrrolidonlösung ergaben sich Viskositäten von ca. 15 bzw. 3,5 cSt. Bei linearer Erhöhung der Konzentration von Methylcellulose MH 300 resultierte ein exponentieller Anstieg der Viskosität (s. Abschnitt A 2, Abb.5 oben, S.26). Die genauere Charakterisierung der Fließeigenschaften der Polymerlösungen erfolgte mit Hilfe eines Brookfield - Rotationsviskosimeters. Die Fließkurven sind in Abb.45 graphisch dargestellt.

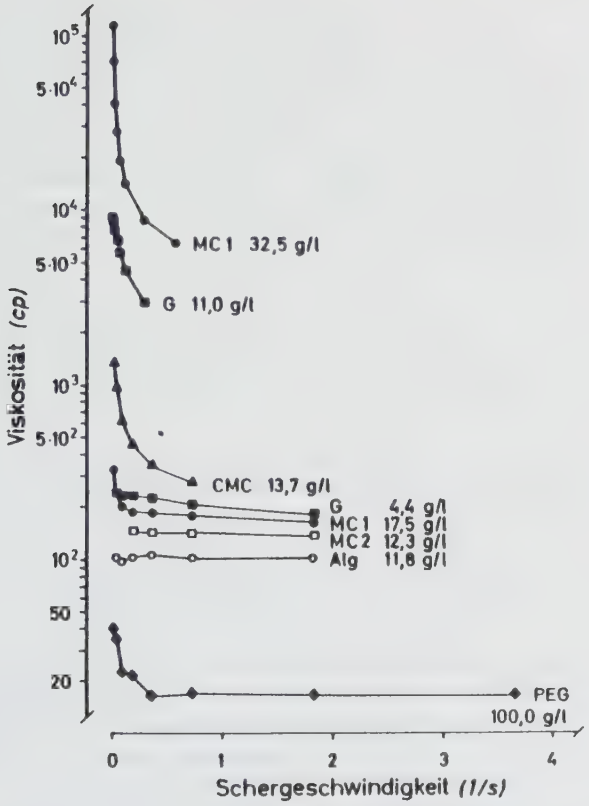


Abb.45: Abhängigkeit der dynamischen Viskosität von der Schergeschwindigkeit. MC 1 = Methylcellulose MH 300, G = Guar, CMC = Carboxymethylcellulose-Na, MC 2 = Methylcellulose MH 1000, Alg = Na- Alginat, PEG = Polyethylenglykol 35000 in Pufferlösung 2, N = 6.

DISKUSSION

Die geschilderten Untersuchungen haben gezeigt, daß der Zusatz von Polymeren, die die Viskosität der Flüssigkeit im Darmlumen erhöhen, die Resorption aus dem Jejunum der Ratte in vivo beeinflußt. Dabei spielt die spezielle Versuchsanordnung eine große Rolle. Wird bei Perfusion einer Jejunumschlinge die Viskosität der Perfusionslösung durch Methylcellulose schrittweise erhöht, steigt der intraluminale Druck an, der intraluminale Radius und die Kontaktfläche zwischen Mukosa und Darminhalt sowie die Erscheinensrate von Antipyrin im Darmvenenblut werden größer. Wird eine unterschiedliche Dehnung der Darmwand durch die Applikation eines immer gleichen Volumens in eine abgebundene Jejunumschlinge vermieden, führt der Zusatz von viskositätserhöhenden Substanzen zu einer Erniedrigung der Resorptionsrate von Benzoesäure, Antipyrin und α-Methyl-D-glucosid, während die Resorption von Harnstoff und Benzylamin unverändert bleibt.

1. Der Einfluß von Polymeren auf die intestinale Resorption bei Perfusion eines Darmsegmentes

Der Mechanismus, der zu einer Vergrößerung der Antipyrinresorption bei Perfusion von Lösungen mit steigendem Methylcellulosegehalt führte, ist offensichtlich: Mit zunehmender Viskosität der Perfusionslösung bei gleicher Perfusionsrate stieg der intraluminale Druck an. Dadurth wurde die Darmwand gedehnt, und es resultierte eine größere Kontaktfläche an der Schleimhaut. Die Proportionalität zwischen der in situ-Fläche - der Mantelfläche des die Zottenspitzen berührenden Zylinders - und der Antipyrinerscheinensrate (Abb.6, S.27) sowohl bei Erhöhung der Viskosität der Perfusionslösung als auch bei direkter Erhöhung des intraluminalen Druckes weist darauf hin, daß diese Flächenvergrößerung die unmittelbare Ursache der Steigerung der Resorptionsrate war. Diese Proportionalität zeigt außerdem, daß eine Änderung der Geometrie der villösen Schleimhautoberfäche (Wanddehnung mit Vergrößerung der intervillösen Spalten) wahrscheinlich keinen zusätzlichen Effekt auf die Antipyrinresorption hatte. Aus theoretischer Sicht wäre bei Eröffnung der intervillösen Spalten eine überproportionale Erhöhung der Resorptionsrate zu erwarten (104). Auch scheint der verlängerte intraluminale Diffusionsweg bei Dehnung der Darmwand in diesen Versuchen keinen Einfluß auf die Resorptionsrate gehabt zu haben. In früheren Versuchen (106) dagegen führte die Anhebung der Auslaufkanüle um 75 mm zu einer Verdopplung der in situ-Fläche, aber nur zu einer 43 - 59%igen Erhöhung der Resorptionsrate von Antipyrin, Salicylsäure, L-

und D-Phenylalanin sowie einer 18%igen Erhöhung der Harnstoffresorptionsrate. Die Butanolresorption wurde um den Faktor 2 erhöht. Die unterproportionale Erhöhung der Resorptionsrate war mit dem verlängerten intraluminalen Diffusionsweg erklärt worden. Bei der Wasser- und Elektrolytresorption ist der Einfluß des intraluminalen Drucks komplizierter, da neben der Flächenänderung Auswirkungen auf die Druckverhältnisse an den Kapillaren und Lymphgängen eine Rolle spielen können. Es wurden nämlich eine Erhöhung, eine Verminderung oder keine änderung der Wasser- und Elektrolytresorption und sogar eine zunehmende Sekretion bei intraluminaler Druckerhöhung beobachtet (22,23,70,90,91). Auch werden Permeabilitätsänderungen durch Vergrößerung der Porenradien in Betracht gezogen (10,59).

In den Perfusionsversuchen dieser Arbeit war die Wirkung der Flächenvergrößerung auf die Resorption größer als die der Abnahme der intraluminalen Diffusionskonstanten. Die durch den Methylcellulosegehalt verminderte Diffusionsgeschwindigkeit hätte eine Verringerung der Resorptionsrate erwarten lassen. Diese zweifache Wirkung der viskositätserhöhenden Substanzen wird ganz deutlich in den von Elsenhans et al. kürzlich veröffentlichten Untersuchungen (29) demonstriert. In ähnlicher Versuchsanordnung (Messung der Verschwindensrate bei Perfusion des Jejunums bzw. Ileums der Ratte in situ) verminderte ein Guarzusatz (7 g/l) bei niedriger Perfusionsrate (0,2 ml/min) die Resorption von Cycloleucin, α-Methyl-D-Glucosid und Taurocholat. Bei hoher Perfusionsrate (0,9 ml/min) dagegen erhöhte der Zusatz die Resorptionsrate dieser Substanzen sowie die von 2-deoxy-D-Glucose. Der intraluminale Druck und die resorbierende Oberfläche nahmen mit zunehmendem Guargehalt und Erhöhung der Perfusionsrate zu. Carrageenan verhielt sich ähnlich wie Guar, während Pectin bei hoher Perfusionsrate nicht zu einer Resorptionserhöhung führte; der intraluminale Druck war in diesem Fall auch geringer. Daß in diesen Versuchen hier nur eine Resorptionserhöhung beobachtet wurde, mag an der Wahl des Substrates (Antipyrin), des Polymers (Methylcellulose) und in feineren Unterschieden in der Versuchsdurchführung liegen. Die erhöhte Salicylsäureresorption nach Carboxymethylcellulose-Na-Zusatz bei Perfusion des Rattendünndarms (3) dürfte eher auf eine Flächenvergrößerung als auf eine, wie die Autoren vermuteten, erhöhte Diffusion des Salicylations aus einer CMC-haltigen in eine CMC-freie Lösung (beobachtet in vitro von Farng und Nelson, 30) beruhen.

2. Der Einfluß von Polymeren auf die intestinale Resorption bei einmaliger Applikation in eine abgebundene Darmschlinge

In den Versuchen mit einmaliger Applikation der Substrate in ein abgebundenes Darmsegment war die Grenzfläche zur Darmschleimhaut im Rahmen der biologischen Streuung konstant, da immer das gleiche Volumen (0,5 ml) injiziert und durch den Zusatz von Cyclohexansulfamat-Na der Wassernettoflux nahe Null gehalten wurde. Der Zusatz von viskositätserhöhenden Stoffen zur applizierten Lösung beeinflußte bei dieser Versuchsanordnung nur die Diffusionsgeschwindigkeit (Diffusionskonstante) der Substrate im Lumen und nicht den makroskopischen Diffusionsweg, da die Geometrie unverändert blieb. Eine Verminderung der Diffusionskonstante wirkt sich nicht immer voll auf die Resorptionsrate aus, da nur der intraluminale Diffusionswiderstand erhöht wird. Die Größe der Resorptionsrate wird aber von der Summe der Teilwiderstände (präepithelialer Diffusions- und epithelialer Permeationswiderstand) bestimmt, siehe dazu Gleichung 4 auf Seite 59. Damit hängt der Einfluß der Diffusionskonstanten vom Größenverhältnis der beiden Teilwiderstände ab und ist am stärksten, wenn der epitheliale Permeationswiderstand sehr klein ist. Damit sollte besonders bei gut resorbierbaren Substanzen eine Verminderung der intraluminalen Diffusionsgeschwindigkeit zu einer kleineren Resorptionsrate führen. Dieses bestätigen die Versuchsergebnisse. Benzoesäure und α-Methyl-D-Glucosid wurden von den untersuchten Substraten am schnellsten resorbiert (Abb.24 und 25, S.51 und 52). Eine Kalkulation mit Hilfe der Gleichungen von Modell B zeigt, daß für diese Substanzen der intraluminale Diffusionswiderstand fast 100% des totalen Permeationswiderstands betrug. Die intraluminale Diffusion war somit der geschwindigkeitsbestimmende Schritt für die Resorption von Benzoesäure und α-Methyl-D-Glucosid. Daher verminderten Methylcellulose MH 300 und Carboxymethylcellulose die Diffusionskonstanten und Resorptionsraten etwa um den gleichen Betrag (10 - 20%).

Für Antipyrin errechnete sich ein Anteil von 70% für den intraluminalen Diffusionswiderstand; die Resorptionsrate war auch geringer als die von Benzoesäure und α-Methyl-D-glucosid. Die Verkleinerung der Antipyrinresorptionsrate um 10 - 15% durch Methylcellulose MH 300 und Carboxymethylcellulose entsprach der Reduktion der Diffusionskonstanten. Guar verursachte bei den drei besprochenen Substanzen eine größere Verminderung der Resorptionsrate (10 - 20%) als der Einfluß auf die Diffusionskonstante erwarten ließ (Reduktion um 4 - 6%). Eine Erklärung kann dafür nicht gegeben werden.

Harnstoff und Benzylamin wurden mit kleiner Rate resorbiert. Für Harnstoff als kleinem hydrophilem Molekül stehen im Epithel für die Permeation nur die hydrophilen Wege ("Poren" und parazellulärer Spalt) zur Verfügung, während das hydrophile α-Methyl-D-Glucosid zusätzlich mittels Carrier transportiert wird (29,99). Die im Vergleich zu Benzoesäure geringere Resorptionsrate des Benzylamins (Faktor 4) kann durch das schwach saure Mikroklima an der Schleimhautoberfläche (18,44,67) erklärt werden. Denn bei einem pH von 6,5 liegt Benzylamin (pKa = 9,33; 38) zu 0,148% und Benzoesäure (pKa = 4,21; 38) zu 0,510% undissoziiert vor; der Anteil des intraluminalen Diffusionswiderstands beträgt für Harnstoff 25% und für Benzylamin 32%. Die gemessene Reduktion der Diffusionskonstanten um 6 - 12% bei Zusatz von Polymeren würde daher nur eine Verminderung der Resorptionsrate um 1,5 - 3,8% verursachen. Diese kleine Änderung ging in der biologischen Streuung unter, so daß für Harnstoff und Benzylamin kein Einfluß der Polymeren auf die intestinale Resorption festgestellt werden konnte. Auch Elsenhans (29) konnte keine Änderung der Harnstoffresorption durch Guar beobachten. Die Reduktion der Diffusionskonstanten durch einen Zusatz von Polymeren und damit die Erhöhung des präepithelialen Diffusionswiderstandes wirken sich also nur bei gut permeablen Substanzen aus, deren Resorptionsgeschwindigkeit im wesentlichen durch die intraluminale Diffusion bestimmt wird.

Die Wirkung der hydrophilen Polymere Polyethylenglykol (PEG) und Polyvinylpyrrolidon (PVP) auf die Resorption und Diffusion war unterschiedlich. Die Diffusionskonstanten wurden durch PEG stark vermindert (um 30%). Aber nur die Resorptionsraten von Antipyrin und Benzoesäure wiesen eine Reduktion um 20 - 25% auf, während die von α-Methyl-D-Glucosid, Harnstoff und Benzylamin unverändert blieben. PVP, nur bei Antipyrin geprüft, verursachte eine Verminderung der Diffusionskonstante um 45% und der Resorptionsrate nur um 6%. Eine einleuchtende Erklärung für diese Diskrepanz kann zur Zeit nicht gegeben werden.

3. Der Einfluß einer zunächst substratfreien Grenzschicht auf die intestinale Resorption

Während bei einmaliger Gabe einer Polymerlösung in eine abgebundene Darmschlinge nur der Einfluß auf die Diffusionskonstante wirksam wird, kommt bei Untersuchungen in vitro (27,53) und in vivo (32) je nach Versuchsanordnung die Verlängerung des Diffusionsweges hinzu. Der resorptionsverzögernde Effekt einer dickeren Grenzschicht an der

Mukosaoberfläche kann in vivo ganz deutlich mit der Technik von Blackburn und Johnson (7,8) demonstriert werden, bei der eine substratfreie, durch Guarzusatz viskose Flüssigkeitsschicht mittels einer Vorperfusion auf die Schleimhaut eines Jejunumsegments der Ratte aufgebracht wird. Wie im Kapitel Ergebnisse, Abschnitt A 5 beschrieben, ist der Anstieg der Erscheinensrate von Antipyrin und α-Methyl-D-Glucosid im Darmvenenblut bei nachfolgender Perfusion ohne Guarzusatz gegenüber der Situation mit einer guarfreien Vorperfusion verzögert. Damit werden die Befunde von Blackburn und Johnson (7,8) und Gee et al. (35), die eine Verzögerung der Glucose- und Cholesterolresorption feststellten, bestätigt. Die Verzögerung der Resorption wird im wesentlichen durch den längeren Diffusionsweg durch die anfänglich substratfreie und wegen der hohen Viskosität dickeren Grenzschicht verursacht. Die Reduktion der Diffusionskonstante in der viskösen Schicht trägt zur Resorptionsverzögerung bei, ist aber quantitativ geringer, wie aus den Versuchen mit einmaliger Applikation der Substanzen zu schließen ist. Nach 20 - 30 min war die Wirkung der unterschiedlichen Vorperfusion beendet, vermutlich weil die viskose Grenzschicht weitgehend herausgespült war und im Rest der Schicht die Fließgleichgewichtskonzentration der Substrate erreicht worden war.

4. Bindung der Substrate an Polymere

Da pflanzliche Hydrokolloide aufgrund von relativ schwachen van der Waal'schen-, Kristallgitterkräften und Wasserstoffbrückenbindungen in der Lage sind, Pharmaka zu binden (39), wurde mittels Gleichgewichtsdialyse untersucht, ob solche Wechselwirkungen in den Resorptionsversuchen eine Rolle gespielt haben könnten. Mit zwei Ausnahmen zeigte die Dialyse keine Auffälligkeiten, damit werden die früheren Untersuchungen von anderen Autoren (27,41,62,87) bestätigt. In der Na-Carboxymethylcellulosehaltigen Lösung war die Konzentration von Benzoesäure um 10% geringer, dagegen die von Benzylamin um 11% höher. Mit der Abstoßung gleichsinniger Ladungen der Benzoesäure- und CMC-Anionen und der Anziehung gegensinniger Ladungen der Benzylaminkationen und CMC-Anionen kann die Beobachtung erklärt werden (42). Ebenso werden auch die erhöhte Permeation von Anionen aus einer Lösung mit nicht permeablen polymeren Anionen durch eine Cellophanmembran in eine polymerfreie Lösung (31,42) und die erhöhte Diffusion von Salicylationen aus einer Carboxymethylcellulose-Na-Lösung in eine CMC-freie Lösung (30) auf die genannte Ursache zurückgeführt. Da die intestinale Benzoesäureresorption durch CMC-Zusatz in den hier berichteten Untersuchungen abnahm, ist die Anionenwechselwirkung zu gering, um bei

der biologischen Variabilität erkannt zu werden.

5. Kolloidosmotischer Druck der Polymere und ihr Einfluß auf den intestinalen Wassernettoflux

Die Berichte über den Einfluß eines Polymerzusatzes zu luminal angebotenen Lösungen auf die intestinale Wasserresorption sind widersprüchlich. In älteren Arbeiten (75,98) wird eine Wirkung verneint, während kürzlich eine Reduktion der Wasser- und Natriumresorption bis zu einer Umkehr des Wassernettofluxes in sekretorische Richtung bei Zusatz von Pectin bzw. Guar beobachtet wurde (29,32). Der kolloidosmotische Druck der in den Untersuchungen hier verwendeten Polymerlösungen überstieg niemals den des Rattenplasmas (Tab.1, S.78). Außerdem war, um osmotische Effekte zu vermeiden, der Salzgehalt der Lösungen (NaCl und NaCHS) so eingestellt worden, daß immer eine Gefrierpunktserniedrigung entsprechend einer Osmolalität von 320 mosmol/kg resultierte. Darum unterschieden sich die geringen ins Lumen gerichteten Wassernettofluxe nicht signifikant von dem, der beim Fehlen der Polymere gemessen wurde. Es soll darauf hingewiesen werden, daß eine Verminderung des kolloidosmotischen Druckes im Blut zu einer Senkung der Wasser- und Natriumresorption führt (24,45,69,98); eine anschließende Infusion einer hyperonkotischen Albuminlösung läßt die beiden Resorptionsraten wieder ansteigen (45).

6. Einfluß der Polymere auf die Diffusionskonstanten von Nichtpolymeren

Die Abweichung von der Stokes-Einstein-Gleichung für die Abhängigkeit der Diffusionskonstanten von der Viskosität des Lösungsmittels bei Verwendung von Polymeren zur Viskositätsänderung ist ein bekanntes Phänomen (9,30,81,96). Nach der Stokes-Einstein-Gleichung ändert sich die Diffusionskonstante invers zur Viskosität (25). Bei Erhöhung der Lösungsmittelviskosität mittels Zusatz einer hochmolekularen Substanz steigt die Viskosität etwa exponentiell mit der Polymerkonzentration an (Abb.5 oben, S.26; 12,32,78), während die Diffusionskonstante des gelösten Nicht-Polymers nur vergleichsweise gering linear abfällt (72, siehe auch Abb.43, S.76). Schon relativ niedrige Polymerkonzentrationen rufen einen steilen Anstieg der "makroskopischen" Viskosität hervor, wohingegen die "mikroskopische" Umgebung weitgehend unverändert vom Lösungsmittel bestimmt wird (73). Eine kleinere Diffusionskonstante wird gemessen, weil die Diffusionswege um die Molekülketten des Polymers länger sind (58,68). Da die ionale Zusammensetzung sowohl die Diffusion als auch die räumliche Anordnung der Hydrogelbildner in der

Lösung beeinflußt, ist verständlich, daß bei Abwesenheit des Cyclohexansulfamatanions eine andere Abhängigkeit der Antipyrindiffusionskonstante von der Methylcellulosekonzentration gefunden wurde (s. Abb.43, S.76). Entsprechend verhielt sich die Resorption des Antipyrins (Abb.21, S.48).

7. Modellanalyse

Die Modellanalyse sollte dazu dienen, erstens die Information der experimentellen Daten so weit wie möglich auszuschöpfen, wenn auch die biologische Variabilität dieses erschwerte, und zweitens die theoretische Modellvorstellung im Experiment zu überprüfen. Da im Modell B die intraluminale Diffusion explizit in der Gleichung (7) erfaßt wurde, wäre eine Unabhängigkeit des Permeabilitätskoeffizienten P_2 vom Zusatz der Polymeren zur intraluminalen Flüssigkeit zu erwarten gewesen. In mehreren Versuchsserien wiesen die statistischen Tests auf signifikante Unterschiede zwischen den P_2 hin. Eine Deutung ist schwierig. Da Modelle die natürlichen Verhältnisse sehr vereinfachen, weisen Abweichungen auf nicht erfaßte Faktoren hin, wie es auch hier möglich ist. Außerdem kann bei komplizierten funktionalen Zusammenhängen die Variabilität der Einzelergebnisse die Ursache für systematische Fehler in der Bestimmung der Parameter sein. Eine Wechselwirkung zwischen den hydrophilen Polymeren und dem Epithel, die sich im Koeffizienten P_2 niederschlägt, ist auch nicht auszuschließen.

In Modell A und B charakterisiert der Faktor f den Anteil der resorbierten Substanz, der tatsächlich im Blut erscheint. Wegen der geringen Dicke der Darmwand der Ratte erscheint auch bei ausreichender Durchblutung ein geringer Prozentsatz (maximal 11% für Tritiumwasser) der luminal applizierten Substanzen auf der Serosaseite (109). Manche Substanzen reichern sich in der Darmwand an, z.B. Phenylalanin (100,110). Ein Faktor von 0,8 für Antipyrin, aus Modell A errechnet, erscheint zu klein, da nicht 20%, sondern nur 1 - 2% auf der Serosaseite erscheinen (109). Kleine Werte für f werden erhalten, wenn fälschlich die Gleichung (6) von Modell A bei der Situation des Modells B angewendet wird. Modell B liefert daher auch größere f-Werte. Wie Abb.34 auf Seite 64 zeigt, schneidet die lineare Extrapolation (Kurve 3) des auslaufenden Astes der Kurve 2 (Modell B) die Ordinate unterhalb der Stelle, an der die Kurve 1 für Modell A beginnt und führt so bei Anwendung des falschen Modelles zu kleineren f-Werten. Beim Vergleich der Gleichungen (A 8) und (A 18) erkennt man, daß die Gleichung für Modell B zusätzlich den Teil

$$\frac{4}{(1+\beta^2/L^2)\beta^2}$$

enthält, der kleiner als 1 ist und den tieferen Schnittpunkt mit der Ordinatenachse verursacht. Die Glieder 120 P_T/R und 60 β^2 D/R^2 sind äquivalent, denn sie sind die Faktoren im Exponenten der e - Funktion.

Ausgewertet wurden nur die Erscheinensraten nach Erreichen des Pseudo-Fließgleichgewichts. Auch die Modelle A und B berücksichtigen nicht, daß die Erscheinensrate in den ersten Minuten von Null ausgehend zunächst ansteigt. Ein Zweikompartimentmodell würde damit der Realität besser entsprechen. Da der ansteigende Kurvenast in den meisten Versuchen nur durch eine Messung mit beträchtlicher Streuung belegt war, ist auf die Auswertung mit einem Zweikompartimentmodell verzichtet worden. Diese Vernachlässigung verursacht daher bei der Bestimmung des Faktors f einen Fehler. Aus der Gleichung für das zu Modell A analoge Zweikompartimentmodell erkennt man, daß bei Anwendung des Modells A nur auf den absteigenden Ast der Zweikompartimentkurve folgendes Glied nicht berücksichtigt wird:

$$\frac{1}{1 - k_1/k_2} \quad) \; 1; \; k_2 \;) \; k_1$$

wobei k_1 und k_2 die Faktoren im Exponenten der beiden e - Funktionen sind. Dieses Glied ist in der Regel nur etwas größer als 1. Nur wenn der Koeffizient für den Flux vom ersten in das zweite Kompartiment bedeutend größer ist als für den Flux in umgekehrter Richtung, wie es bei den aktiv transportierten Substanzen der Fall ist, steigt das obengenannte Glied auf 1,3 an. Dieses erklärt die über 1 liegenden Werte von f für α-Methyl-D-Glucosid.

Mit Modell Af läßt sich zwar der zeitliche Verlauf der Erscheinensrate für praktische Zwecke ausreichend beschreiben, aber Modell B bzw. Bf entspricht aus folgenden Gründen eher der Wirklichkeit: 1. In einer abgebundenen Darmschlinge ohne Peristaltik erscheint die vollständige Durchmischung des Darmlumens äußerst unwahrscheinlich. 2. Die experimentellen Kurven zeigen die Krümmung, die von Modell B vorausgesagt wird. 3. Aus Modell Af wurden Werte für den Faktor f ermittelt, die sachlich nicht stimmen können. 4. Die Reduktion der Resorptionsrate durch den Polymerzusatz entspricht quantitativ in etwa den aus Modell B und aus der Reduktion der Diffusionskonstante ermittelten Größen

(Abschnitt 2). Mit Modell B kann man daher den präepithelialen Widerstand bei Resorption aus einer abgebundenen Darmschlinge erfassen und rechnerisch behandeln.

8. Synopsis

Die zahlreichen, sich zum Teil widersprechenden Einzelbefunde machen es schwierig, die Kausalkette von der oralen Einnahme eines Hydrogelbildners bis zur Abflachung der Glukose-Toleranzkurven zweifelsfrei darzustellen. Folgende Wirkungen eines Hydrogelbildners bzw. Polymers auf die gastrointestinalen Funktionen sind zu berücksichtigen:

1. Abnahme der intraluminalen Diffusionsgeschwindigkeit (Diffusionskonstante) des Substrates. Wie in dieser Arbeit gezeigt wurde, ist die dadurch verursachte Verringerung der Resorptionsrate nicht groß (bis 25%) und ist nur bei gut resorbierbaren Substanzen erkennbar. Auch im abgebundenen Magen ist die Resorption vermindert (64). Die erhöhte Viskosität des Darminhalts bei längerer Zufütterung von Hydrogelbildnern (55) mag auf diesem Wege die Resorption beeinflussen.

2. Vergrößerung des intraluminalen Diffusionsweges. ("effective unstirred layer thickness"), gemessen in vitro (53,54) und in vivo (32). Zusammen mit der Abnahme der Diffusionskonstanten resultiert ein höherer präepithelialer Diffusionswiderstand, der in vitro und in vivo zu einer Abnahme der Resorption führt (9,20,27,28,29,32,35,53,54). Es ist zu beachten, daß bei Transporten mit Sättigungskinetik im Sättigungsbereich der präepitheliale Diffusionswiderstand nicht wirksam ist (92,101), so daß die fehlende Wirkung eines Polymerzusatzes bei hoher Glukosekonzentration (9,20,33) verständlich ist. Es muß darauf hingewiesen werden, daß bei laminarer Strömung, die unter experimentellen Bedingungen beobachtet wird (1), und unveränderter Geometrie des Darmlumens ein Polymerzusatz den intraluminalen Diffusionsweg nicht ändert, sondern nur die Diffusionskonstante (107). Daher wird der präepitheliale Diffusionswiderstand nur in geringerem Umfang erhöht. Damit wäre die fehlende Wirkung eines Polymerzusatzes auf die Grenzschichtdicke bei Perfusionsuntersuchungen (9) erklärbar. Dagegen weisen große Änderungen dieser Meßgröße auf eine nicht laminare Strömung hin, wo eine variable, nicht oder nur kaum durchmischte Grenzschicht von einer gut durchmischten "bulk phase" unterschieden werden kann. Wird experimentell eine substratfreie, visköse Grenzschicht auf die Mukosa aufgebracht, ist die Resorption verzögert (Kapitel Ergebnisse, Abschnitt A 5; 7,8,35,53).

3. Vergrößerung der mukosalen Kontaktfläche. Bei Perfusion einer Darmschlinge verursacht eine genügend hohe Viskosität der Lösung eine

Dehnung der Darmwand mit Vergrößerung der Kontaktfläche und einem Anstieg der Resorptionsrate (Kapitel Ergebnisse, Abschnitt A 2; 29). Die Auswirkung der Flächenvergrößerung übertrifft den gegensinnigen Effekt einer Verlängerung des intraluminalen Diffusionsweges und einer Verminderung der Diffusionsgeschwindigkeit. Fehlende Wirkungen des Polymerzusatzes auf die intestinale Resorption (82) mögen auf diese Weise erklärbar sein.

4. Verlängerung der gastrointestinalen Passagezeit. Durch Zusatz von Polymeren wird die "Mund - Caecum - Passagezeit" vergrößert (6,9,34, 61,62,64,111). Die Magenentleerungszeit ist wohl in Abhängigkeit von der Osmolarität des Trunkes (6) oder der Konstitution ("Quick starter"; 62) verlängert (20,43,62) oder unverändert (5,6,9,41,62,79). Ob eine Verzögerung der Ausbreitung des Nahrungsbolus nach Verlassen des Magen auch eine Rolle spielt (62) wird von anderer Seite bezweifelt (6).

5. Morphologische und funktionelle Änderungen im Darm bei längerer Polymereinnahme. Fütterung verschiedener Polymere über längere Zeit können, müssen aber nicht (7), zu morphologischen Änderungen des Darmes führen, wie Verlängerung des Dünndarms (26) oder Vergrößerung der Darmzotten (85). Der in vitro gemessene Influx von 3-O-Methylglucose, α-Aminobutyrat und Natrium (85) sowie die Paracetamolresorption in vivo (11) sind dann erhöht und die in vivo-Resorption von Glucose vermindert (82) oder wie die Wasser- und Cholesterolresorption unverändert (35). Die Magenentleerung ist verlangsamt (14).

Zusammenfassend kann man sagen, ein ausreichender Polymerzusatz zur Nahrung verlangsamt durch die Viskositätserhöhung den longitudinalen (Magenentleerung, Passagezeit) und radialen (präepithelialer Diffusionswiderstand) Transport der resorbierbaren Anteile im Darmlumen, so daß eine Verzögerung der intestinalen Resorption für Nahrungsstoffe und Pharmaka und bei Glucose eine Abflachung der sogenannten Toleranzkurve resultiert.

ANHANG

1. Ableitungen der Gleichungen für die Resorptionsrate

1.1 Modell A

In diesem Modell wird das Darmlumen als ein zylindrisches Kompartiment mit Radius R (cm), Mantelfläche (cm^2)

$$F = 2 R \pi l \qquad (A\ 1)$$

und Volumen (ml)

$$V = R^2 \pi l \qquad (A\ 2)$$

angesehen, wobei l (cm) die Länge des Zylinders (Darmsegmentes) darstellt (Abb.33, S.60). Die Substanzmenge m (nmol), die pro Zeiteinheit t (min) aus dem Kompartiment permeiert ("Verschwindensrate") ist proportional dem Permeabilitätskoeffizienten P_T (cm/s), der Mantelfläche F und der intraluminalen Konzentration C (nmol/ml):

$$\frac{dm}{dt} = - 60\ P_T\ F\ C \qquad (A\ 3)$$

Dabei wird eine vollständige Durchmischung des Darminhaltes mit Ausnahme der präepithelialen Grenzschicht (unstirred layer) angenommen, so daß die Konzentration im Lumen - genauer in der sogenannten durchmischten "bulk phase"- überall die gleiche Größe hat. Der Faktor 60 s/min wird benötigt, weil die Zeit in min und der Permeabilitätskoeffizient in cm/s gemessen wird. P_T charakterisiert die Permeabilität des Permeationsweges von der "bulk phase" des Darmlumens bis zum Blut. Mit

$$C = m/V \qquad (A\ 4)$$

folgt

$$\frac{dm}{dt} = - 60\ \frac{P_T\ Fm}{V} = - k\ m = - \frac{120\ P_T}{R}\ m \qquad (A\ 5)$$

$k = 60\ P_T\ F/V = 120\ P_T/R\ (min^{-1})$ stellt die "first order absorption rate constant" dar. Den rechten Teil der Gl.(A 5) erhält man durch Einsetzen der Gl.(A 1) und (A 2). Nach Integration der Gleichung (A 5) mit der Anfangsbedingung $m = m_0$ bei $t = 0$ erhält man:

$$\ln m = \ln m_0 - k\ t \qquad \text{(A 6)}$$

und schließlich

$$m = m_0\ e^{-k\ t} = C_0\ V\ e^{-k\ t} \qquad \text{(A 7)}$$

$m_0 = C_0\ V$ (nmol) ist die applizierte Substanzmenge und C_0 (nmol/ml) die luminale Anfangskonzentration. Die auf das Feuchtgewicht W (g) des Darmsegmentes bezogene Erscheinensrate ϕ (nmol $min^{-1}g^{-1}$) folgt aus Gleichung (A 5) mit Gleichung (A 7):

$$\phi = -\frac{1}{W}\frac{dm}{dt} = \frac{C_0\ V}{W}\ \frac{120\ P_T}{R}\ e^{-120\ P_T\ t/R} \qquad \text{(A 8)}$$

Das Minuszeichen berücksichtigt, daß die Erscheinensrate die negative Verschwindensrate ist. Da die Erscheinensrate zeitlich variabel ist und experimentell nur der Mittelwert über das Zeitintervall $t_2 - t_1$ (min) bestimmt werden kann, muß die integrierte Form der Gleichung (A 8) für die Modellanalyse verwendet werden:

$$\phi = \frac{1}{t_2-t_1}\int_{t_1}^{t_2} \phi\ dt = \frac{C_0\ V}{W(t_2-t_1)}\left[e^{-120\ P_T\ t_1/R} - e^{-120\ P_T\ t_2/R}\right] \qquad \text{(A9)}$$

= Gl. (5)

Mit dem Faktor f berücksichtigt man, daß nur der Anteil f der permeierenden Substanzmoleküle im Blut erscheint (Modell Af):

$$\phi = \frac{C_0\ V}{W(t_2-t_1)}\ f\left[e^{-120\ P_T\ t_1/R} - e^{-120\ P_T\ t_2/R}\right] \qquad \text{(A 10)}$$

= Gl. (6)

1.2 Modell B

In diesem Modell entfällt die Annahme der Durchmischung des Darminhalts (107). Durch radiale Diffusion gelangen die Substanzmoleküle zur Schleimhautoberfläche (Abb.33, S.60). Diese Diffusion wird durch das 2. Fick'sche Gesetz in Zylinderkoordinaten beschrieben, wobei eine Diffusion in axialer Richtung als nicht existent angesehen wird (16):

$$\frac{\partial C_{r,t}}{\partial t} = D \left[\frac{\partial C_{r,t}}{\partial r^2} + \frac{1}{r} \frac{\partial C_{r,t}}{\partial r} \right] \qquad \text{(A 11)}$$

$C_{r,t}$ (nmol/ml) ist die Konzentration zum Zeitpunkt t im Abstand r (cm) von der Zylinderachse. Wir haben die Anfangs- und Randbedingungen:

$$C_{r,0} = C_0 \quad \text{für} \quad 0 < r < R \quad \text{und} \quad t = 0, \qquad \text{(A 12)}$$

$$\frac{\partial C_{0,t}}{\partial r} = 0 \quad \text{für} \quad r = 0 \quad \text{sowie} \qquad \text{(A 13)}$$

$$- D F \frac{\partial C_{R,t}}{\partial r} = P_2 F C_{R,t} \quad \text{für} \quad r = R \quad \text{und} \quad t > 0 \qquad \text{(A 14)}$$

Gleichung (A 12) beschreibt die Anfangssituation einer gleichen Konzentration im ganzen Darmlumen. Gleichung (A 13) sagt aus, daß an der Zylinderachse der Konzentrationsgradient immer Null ist. An der Mukosaoberfläche ist der Substanzfluß (positiv in Richtung Blut) proportional dem Permeabilitätskoeffizienten P_2 (cm/s), der Mantelfläche F (cm^2) und der Konzentration $C_{R,t}$ (nmol/ml) (vgl. Gl. A 3), bzw. proportional der Diffusionskonstanten (cm^2/s), der Mantelfläche F (cm^2) und dem Konzentrationsgradienten an der Mukosaoberfläche $\partial C_{R,t} / \partial r$. P_2 charakterisiert die Permeabilität des Permeationsweges von der Schleimhautoberfläche bis zum Blut; ein präepithelialer Diffusionsweg ist also nicht darin enthalten. Die Lösung der Gleichung (A 11) für die Grenzbedingungen A 12 - A 14 lautet (16):

$$C_{r,t} = 2 L C_0 \sum_{n=1}^{\infty} \frac{J_0(r\beta_n/R)}{(\beta_n^2+L^2)J_0(\beta_n)} e^{-60 \beta_n^2 Dt/R^2} \qquad \text{(A 15)}$$

mit

$$L = P_2 \; R \; / \; D \qquad \text{(A 16)}$$

und den β_n's als Wurzel der Gleichung

$$\beta_n \; J_1(\beta_n) - L \; J_0(\beta_n) = 0 \qquad \text{(A 17)}$$

$J_0(\beta_n)$ und $J_1(\beta_n)$ sind die Besselfunktionen nullter und erster Ordnung. Gleichung (A 15) für r = R in Gleichung (A 14) eingesetzt und auf das Feuchtgewicht W (g) bezogen (t in min), ergibt mit Gleichungen (A 1, A 2 und A 16):

$$\phi = \frac{P_2 \; F \; C_{R,t}}{W} = \frac{C_0 \; V}{W} \; \frac{4 \times 60 \; L^2 D}{R^2} \; \sum_{n=1}^{\infty} \frac{e^{-60 \; \beta_n^2 \; Dt/R^2}}{\beta_n^2 + L^2} \qquad \text{(A 18)}$$

Die Integration über das Zeitintervall $t_1 - t_2$ liefert die Gleichung für die Modellanalyse:

$$\phi = \frac{C_0 \; V}{W(t_2 - t_1)} \; 4 \; L^2 \; \sum_{n=1}^{\infty} \frac{e^{-60 \; \beta_n^2 \; Dt_1/R^2} - e^{-60 \; \beta_n^2 \; Dt_2/R^2}}{\beta_n^2 \; (\beta_n^2 + L^2)} \qquad \text{(A 19)} = \text{Gl. (7)}$$

Mit dem Faktor f erhält man die Gleichung für Modell Bf:

$$\phi = \frac{C_0 \; V}{W(t_2 - t_1)} \; 4 \; L^2 \; f \; \sum_{n=1}^{\infty} \frac{e^{-60 \; \beta_n^2 \; Dt_1/R^2} - e^{-60 \; \beta_n^2 \; Dt_2/R^2}}{\beta_n^2 \; (\beta_n^2 + L^2)} \qquad \text{(A 20)} = \text{Gl. (8)}$$

2. Tabellen

Erläuterungen zu den Tabellen 2 - 5

Diff.-konst. = Diffusionskonstante des Substrats in der betreffenden Perfusionslösung

Viskosität = kinematische Viskosität der Perfusionslösung, gemessen mit dem Kapillarviskosimeter

ER = Erscheinensrate im Darmvenenblut

Radius = in situ-Radius = intraluminaler Radius, ermittelt aus dem in situ gemessenen Umfang des Jejunumsegments

Fläche = in situ-Fläche = Mantelfläche des Zylinders mit obigem Radius und der in situ gemessenen Länge des Jejunumsegments

P = hydrostatischer Druck am Einlauf in das Jejunumsegment in mm Flüssigkeitssäule

ΔER, ΔRadius, ΔFläche, ΔP = Änderung (2.Periode - 1.Periode)

Auslaufhöhe = Höhe des Auslaufes aus dem Jejunumsegment über diesem

Durchblutung = Durchblutung des untersuchten Jejunumsegments bezogen auf 1 g Feuchtgewicht, gemittelt über alle Perioden und Tiere

Darmfeucht-gewicht = Feuchtgewicht der perfundierten Darmschlinge am Versuchsende, gemittelt über alle Tiere

in situ-Länge = Länge des perfundierten Jejunumsegments in situ, gemittelt über alle Perioden und Tiere

Wassernettoflux= bezogen auf 1 g Feuchtgewicht und gemittelt über alle Perioden und Tiere; positiv ins Blut gerichtet

Unterschied zwischen Gruppen: Ergebnis der varianzanalytischen Prüfung auf Unterschiede zwischen den Gruppen mit dem F-Test

zeitliche Änderung: Differenz 2. bzw. letzte - 1.Periode in % der 1. Periode, Prüfung mittels des linearen Kontrasts

linearer Kontrast: lineare Komponente der Unterschiede zwischen den Gruppen

Signifikanzgrenzen: n.s. P > 0,05; * 0,05 > P > 0,01; ** 0,01 > P > 0,001; *** P < 0,001

Tab.2: Einfluß von Methylcellulose MH 300 auf die Antipyrinresorption im perfundierten Jejunum der Ratte. Konzentration 1 mmol/l, Perfusionsrate 0,1 ml/min, N = 8.

Konzentration von MC MH 300 g/l	0	4,4	8,8	13,1	17,5
Diff.-konst. (10^{-5} cm^2/s)	1,145 ±0,019	1,059 ±0,021	0,998 ±0,015	0,926 ±0,012	0,825 ±0,027
Viskosität (cSt)	0,73 ±0,00	3,66 ±0,02	13,58 ±0,08	40,08 ±0,09	94,05 ±0,12
ER 1.Periode (nmol $min^{-1}g^{-1}$)	46,58 ±2,34	60,73 ±5,51	51,79 ±3,29	48,13 ±1,91	55,14 ±2,92
ΔER (nmol $min^{-1}g^{-1}$)	-1,58 ±2,37	-1,15 ±2,50	+4,07 ±1,75	+8,31 ±2,32	+12,06 ±3,30
Radius 1.Periode (mm)	1,703 ±0,109	1,862 ±0,074	1,822 ±0,127	1,663 ±,040	1,693 ±0,114
ΔRadius (mm)	-0,100 ±0,073	-0,119 ±0,084	-0,040 ±0,093	+0,200 ±0,040	+0,269 ±0,040
Fläche 1.Periode (cm^2)	5,745 ±0,295	5,878 ±0,337	5,457 ±0,368	5,309 ±0,323	5,353 ±0,513
ΔFläche (cm^2)	-0,390 ±0,231	-0,436 ±0,229	-0,029 ±0,274	+0,635 ±0,130	+0,872 ±0,161

	ΔErsch.-rate	ΔFläche	ΔRadius
lin. Kont.	$F_{1,28}$= 15,05 ***	$F_{1,28}$= 26,89 ***	$F_{1,28}$= 20,99 ***

N = 40			Unterschied zw.Gruppen	zeitliche Änderung
Durchblutung:	1,07 ± 0,04	ml $min^{-1}g^{-1}$	ø	-4,0 % **
Darmfeuchtgewicht:	393,7 ±14,9	mg	ø	
in situ-Länge:	5,1 ± 0,1	cm	ø	-0,4 % ø
Wassernettoflux:	6,9 ± 1,3	µl $min^{-1}g^{-1}$	ø	-0,6 % ø

Tab.3: Einfluß von Methylcellulose MH 300 auf den hydrostatischen Druck am Einlauf einer perfundierten Jejunumschlinge der Ratte. Perfusionsrate 0,1 ml/min, N = 8.

Konzentration von MC MH 300 g/l	0	4,4	8,8	13,1	17,5
Viskosität (cSt)	0,71 ±0,00	3,65 ±0,01	14,24 ±0,18	42,50 ±0,14	113,58 ±0,67
P 1.Periode (mm Säule)	24,13 ±0,74	23,63 ±0,72	22,63 ±1,11	22,94 ±1,01	21,38 ±0,88
ΔP (mm Säule)	-2,56 ±1,29	+0,69 ±2,13	+1,63 ±1,21	+3,31 ±1,43	+18,19 ±2,92
Radius 1.Periode (mm)	1,584 ±0,119	1,614 ±0,080	1,614 ±0,125	1,634 ±0,090	1,385 ±0,052
ΔRadius (mm)	+0,010 ±0,070	-0,060 ±0,095	-0,159 ±0,070	+0,079 ±0,062	+0,318 ±0,100
Fläche 1.Periode (cm^2)	4,532 ±0,444	4,323 ±0,312	4,691 ±0,471	4,836 ±0,390	4,333 ±0,233
ΔFläche (cm^2)	+0,036 ±0,210	-0,142 ±0,290	-0,504 ±0,230	+0,279 ±0,230	+0,999 ±0,310

N = 40		Unterschied zw.Gruppen	zeitliche Änderung
Darmfeuchtgewicht:	385,8 ±12,2 mg	ø	
in situ-Länge:	4,6 ± 0,1 cm	ø	-5,1 % ø

Tab.4: Einfluß des intraluminalen Drucks auf die Antipyrinresorption im Jejunum der Ratte. Konzentration 1 mmol/l, Perfusionsrate 0,1 ml/min, N = 8.

Auslauf-höhe cm	0	2	4	6	8
ER 1.Periode ($nmol\ min^{-1}g^{-1}$)	45,90 ±1,38	42,01 ±3,21	45,46 ±3,49	47,78 ±2,77	45,60 ±1,82
ΔER ($nmol\ min^{-1}g^{-1}$)	-0,80 ±2,29	+10,08 ±2,10	+26,26 ±3,21	+25,20 ±2,44	+37,52 ±3,54
Radius 1.Periode (mm)	1,773 ±0,116	1,544 ±0,086	1,653 ±0,104	1,743 ±0,084	1,852 ±0,086
ΔRadius (mm)	-0,020 ±0,072	+0,398 ±0,075	+0,846 ±0,129	+1,074 ±0,107	+1,214 ±0,103
Fläche 1.Periode (cm^2)	5,574 ±0,366	4,809 ±0,337	4,619 ±0,305	5,252 ±0,303	5,358 ±0,220
ΔFläche (cm^2)	-0,097 ±0,199	+1,217 ±0,202	+2,539 ±0,413	+3,461 ±0,411	+4,325 ±0,364
Länge 1.Periode (cm)	5,038 ±0,196	4,944 ±0,164	4,463 ±0,135	4,800 ±0,170	4,638 ±0,195
ΔLänge (cm)	-0,013 ±0,035	+0,013 ±0,074	+0,088 ±0,099	+0,100 ±0,066	+0,413 ±0,061

	ΔErsch.-rate	ΔFläche	ΔRadius	ΔLänge
lin. Kont.	$F_{1,35}$=109,51 ***	$F_{1,35}$=111,24 ***	$F_{1,35}$= 99,83 ***	$F_{1\ 35}$= 17,94 ***

N = 40			Unterschied zw.Gruppen	zeitliche Änderung
Durchblutung:	0,96 ± 0,03	ml $min^{-1}g^{-1}$	ø	- 5,3 X ***
Darmfeuchtgewicht:	370,1 ± 9,3	mg	*	
Wassernettoflux:	6,1 ± 1,5	pl $min^{-1}g^{-1}$	ø	-19,2 X ø

Tab.5: Einfluß der Vorperfusion mit einer Guarlösung (6,0 g/l, Viskosität 203,43 ± 2,05 cSt) auf die Antipyrin- und α-Methyl-D-Glucosidresorption im Jejunum der Ratte. Substratkonzentration 1 mmol/l, Perfusionsrate 0,2 ml/min; N = 6.

	Erscheinensrate (nmol $min^{-1}g^{-1}$) von:			
	Antipyrin		α-Methyl-D-Glucosid	
Vorperfusion Zeit (min)	ohne	mit	ohne	mit Zusatz von Guar
0- 3	14,43	7,14	8,67	3,61
	±3,01	±1,56	±2,19	±1,07
3- 6	40,97	24,73	48,36	19,86
	±5,29	±5,28	±6,79	±4,04
6- 9	53,20	33,93	77,16	38,58
	±5,82	±4,81	±11,17	±6,54
9-12	57,00	37,79	86,40	47,56
	±6,07	±4,01	±11,50	±6,75
12-15	58,31	43,87	90,14	57,64
	±6,69	±3,69	±11,11	±7,84
15-20	56,77	50,24	89,92	67,08
	±6,48	±3,18	±10,43	±7,24
20-25	55,51	56,37	83,27	67,80
	±6,06	±3,53	±10,00	±6,71
25-30	55,14	55,10	78,73	74,20
	±5,84	±3,79	±10,04	±6,21
30-35	53,67	55,22	78,16	72,04
	±5,79	±3,98	±7,87	±7,03
35-40	52,46	54,74	75,99	68,22
	±5,70	±4,60	±8,30	±7,89
40-45	51,97	52,79	69,30	65,75
	±5,53	±4,79	±7,09	±7,30
45-50	49,91	51,37	66,72	63,81
	±5,98	±4,42	±6,51	±8,54
50-55	48,75	50,52	64,40	60,04
	±5,79	±3,67	±5,61	±9,32
55-60	48,11	47,92	60,30	55,37
	±5,95	±3,58	±5,41	±9,51

N = 24			Unterschied zw.Gruppen	zeitliche Änderung
Durchblutung:	1,02 ± 0,03	ml $min^{-1}g^{-1}$	ø	-0,4 % ø
Darmfeuchtgewicht:	394,8 ±14,8	mg	ø	
in situ-Länge:	5,4 ± 0,1	cm	ø	-0,8 % ø
in situ-Fläche:	5,8 ± 0,4	cm^2	ø	-0,8 % ø
in situ-Radius:	1,71 ± 0,09	mm	ø	-0,4 % ø

Tab.5b: Regressionsanalyse des ansteigenden und abfallenden Kurventeils der Kurven von Abb.13. Mittlere Regressionskoeffizienten in nmol $min^{-2}g^{-1}$, N = 6.

Antipyrin		α-Methyl-D-Glucosid		
ansteigender	abfallender	ansteigender	abfallender Kurventeil	
ohne Guarzusatz				
0 - 9	12 - 60	0 - 9	15 - 60	min
6,46 ± 0,75	-0,23 ± 0,05	11,42 ± 1,56	-0,59 ± 0,23	
mit Guarzusatz				
0 - 9	20 - 60	0 - 9	25 - 60	min
4,47 ± 0,68	-0,23 ± 0,09	5,83 ± 0,90	-0,61 ± 0,14	
Test 2 (siehe Erläuterungen zu Tab.15 u. 16)				
$F_{1,22} = 4,76$ *	$F_{1,84} = 0,14$ n	$F_{1,22} = 18,63$ ***	$F_{1,72} = 1,63$ n	
Test 3				
	$F_{1,10} = 0,00$ n		$F_{1,10} = 0,59$ n	

Erläuterungen zu den Tabellen 6 - 14

Diff.-konstante	= Diffusionskonstante des Substrats in der entsprechenden Injektionslösung
Viskosität	= kinematische Viskosität der Injektionslösung, gemessen mit dem Kapillarviskosimeter
Durchblutung	= Durchblutung des untersuchten Jejunumsegments bezogen auf 1 g Feuchtgewicht, gemittelt über alle Perioden und Tiere
Darmfeuchtgewicht	= Feuchtgewicht des abgebundenen Jejunumsegments am Versuchsende, gemittelt über alle Tiere
in situ-Länge	= Länge des abgebundenen Jejunumsegments in situ, gemittelt über alle Perioden und Tiere
in situ-Radius	= intraluminaler Radius, ermittelt aus dem in situ gemessenen Umfang des Jejunumsegments
in situ-Fläche	= Mantelfläche des Zylinders mit obigem Radius und der in situ gemessenen Länge des Jejunumsegments

Unterschied zwischen Gruppen: Ergebnis der varianzanalytischen Prüfung auf Unterschiede zwischen den Gruppen mit dem F-Test

zeitliche Änderung: Differenz letzte - 1.Periode in % der 1.Periode, Prüfung mittels des linearen Kontrasts

Signifikanzgrenzen: siehe Erläuterungen zu den Tabellen 2 - 5

Tab. 6: Einfluß von Methylcellulose MH 300 auf die Antipyrinresorption. Applikation von 0,5 ml Puffer ohne und mit Zusatz von von MC in eine abgebundene Jejunumschlinge der Ratte zum Zeitpunkt Null; Anfangskonzentration im Lumen 1 mmol/l; N = 8.

	Erscheinensrate im Darmvenenblut (nmol $min^{-1}g^{-1}$)					Diff.-Konstante	Viskosität
min	5 - 10	10 - 15	15 - 20	20 - 25	25 - 30	10^{-5} * cm^2/s	cSt
Kontrolle ohne MC	72,8 ± 5,4	42,3 ± 3,4	25,4 ± 3,3	18,5 ± 1,7	12,8 ± 1,3	1,053 ± 0,020	0,73 ± 0,00
MC MH 300 4,4 g/l	72,0 ± 5,3	45,2 ± 3,3	31,3 ± 2,9	22,4 ± 2,0	15,9 ± 1,5	1,023 ± 0,016	3,47 ± 0,01
MC MH 300 8,8 g/l	73,1 ± 5,2	45,2 ± 2,9	29,9 ± 2,3	22,1 ± 2,0	15,0 ± 1,5	0,980 ± 0,011	13,26 ± 0,04
MC MH 300 13,1 g/l	62,9 ± 3,4	38,6 ± 2,8	26,3 ± 2,0	18,7 ± 1,3	12,9 ± 1,4	0,929 ± 0,012	39,64 ± 0,12
MC MH 300 17,5 g/l	65,3 ± 5,3	41,9 ± 4,0	29,0 ± 2,5	18,8 ± 1,3	12,7 ± 1,0	0,908 ± 0,023	98,16 ± 0,13

N = 40			Unterschied zw. Gruppen	zeitliche Änderung	
Durchblutung	1,07 ± 0,04	ml min^{-1} g^{-1}	#	-6,2 %	***
Darmfeuchtgewicht	318,7 ± 11,5	mg	#		
in situ-Länge	4,2 ± 0,1	cm	#	-1,0 %	#
in situ-Fläche	5,56 ± 0,08	cm^2	#	-7,1 %	***
in situ-Radius	2,11 ± 0,04	mm	#	-6,2 %	***

Tab.7: Antipyrinresorption aus Pufferlösungen ohne Zusatz (Kontrollen). Applikation von 0,5 ml Puffer in eine abgebundene Jejunumschlinge der Ratte zum Zeitpunkt Null, Anfangskonzentration im Lumen 1 mmol; N = 8.

	Erscheinensrate im Darmvenenblut (nmol $min^{-1}g^{-1}$)				
min	5 - 10	10 - 15	15 - 20	20 - 25	25 - 30
Kontrolle 1	72,8 ± 5,4	42,3 ± 3,4	25,4 ± 3,3	18,5 ± 1,7	12,8 ± 1,3
Kontrolle 2	74,4 ± 3,8	43,2 ± 2,2	26,3 ± 1,3	17,3 ± 1,0	11,5 ± 0,7
Kontrolle 3	70,4 ± 4,6	41,9 ± 1,7	27,4 ± 1,2	18,9 ± 0,9	12,8 ± 1,0
MITTELWERT	72,5 ± 2,6	42,5 ± 1,4	26,4 ± 1,2	18,2 ± 0,7	12,3 ± 0,6

N = 24			Unterschied zw. Gruppen	zeitliche Änderung	
Durchblutung	1,17 ± 0,05	ml min^{-1} g^{-1}	#	-5,0 %	##
Darmfeuchtgewicht	302,6 ± 12,5	mg	#		
in situ-Länge	4,2 ± 0,1	cm	#	-1,9 %	#
in situ-Fläche	5,79 ± 0,14	cm^2	#	-5,4 %	#
in situ-Radius	2,19 ± 0,05	mm	#	-3,7 %	#

Tab. 8: Einfluß von Methylcellulose MH 300, Carboxymethylcellulose-Na, Guar, Polyethylenglykol 35000, Methylcellulose MH 1000, Na-Alginat und Polyvinylpyrrolidon auf die Antipyrinresorption. Applikation von 0,5 ml Puffer mit und ohne Zusatz von viskositätserhöhenden Substanzen in eine abgebundene Jejunumschlinge der Ratte zum Zeitpunkt Null; Anfangskonzentration im Lumen 1 mmol/l; N = 8.

	Erscheinensrate im Darmvenenblut (nmol $min^{-1}g^{-1}$)					Diff.-Konst.	Viskosität
min	5 - 10	10 - 15	15 - 20	20 - 25	25 - 30	10^{-5} * cm^2/s	cSt
Kontrolle zus.	72,5 ± 2,6	42,5 ± 1,5	26,4 ± 1,2	18,2 ± 0,7	12,3 ± 0,6	1,053 ± 0,020	0,73 ± 0,00
MC MH 300 17,5 g/l	65,2 ± 5,3	41,9 ± 4,0	29,0 ± 2,5	18,8 ± 1,3	12,7 ± 1,0	0,908 ± 0,023	98,16 ± 0,13
CMC-Na 13,7 g/l	74,6 ± 6,6	46,1 ± 3,4	32,9 ± 2,4	23,4 ± 1,8	15,7 ± 1,5	0,934 ± 0,019	93,67 ± 4,07
Guar 4,4 g/l	70,3 ± 9,2	43,2 ± 5,8	28,9 ± 3,3	20,5 ± 2,1	14,2 ± 1,5	0,989 ± 0,040	106,44 ± 0,76
PEG 35000 100,0 g/l	58,7 ± 4,9	36,7 ± 4,1	26,0 ± 3,5	20,8 ± 2,3	15,2 ± 1,8	0,675 ± 0,010	13,43 ± 0,01
MC MH 1000 12,3 g/l	69,7 ± 5,5	44,1 ± 3,1	30,5 ± 2,2	21,4 ± 1,6	13,8 ± 1,0	0,964 ± 0,021	98,41 ± 0,48
Na-Alginat 11,8 g/l	81,1 ± 6,8	50,3 ± 4,1	33,3 ± 2,2	24,3 ± 1,8	15,9 ± 1,4	0,964 ± 0,015	93,93 ± 0,12
PVP 120,0 g/l	65,3 ± 3,5	42,6 ± 2,7	28,1 ± 2,1	19,4 ± 1,7	12,8 ± 1,1	0,576 ± 0,015	3,84 ± 0,00

Fortsetzung Tabelle 8:

N = 80			Unterschied zw. Gruppen	zeitliche Änderung	
Durchblutung	1,17 ± 0,03	ml $min^{-1}g^{-1}$	#	-5,6 %	***
Darmfeuchtgewicht	298,0 ± 7,8	mg	#		
in situ-Länge	4,2 ± 0,1	cm	#	-2,1 %	***
in situ-Fläche	5,69 ± 0,08	cm^2	#	-6,0 %	***
in situ-Radius	2,16 ± 0,03	mm	#	-4,2 %	**

Tab. 9: Einfluß einer hohen Konzentration von Methylcellulose MH 300 und Guar auf die Antipyrinresorption. Applikation von 0,5 ml Puffer mit und ohne Zusatz von Hydrogelbildner in eine abgebundene Jejunumschlinge der Ratte zum Zeitpunkt Null; Anfangskonzentration im Lumen 1 mmol/l; N = 8.

	Erscheinensrate im Darmvenenblut (nmol $min^{-1}g^{-1}$)					Diff.-Konst.	Viskosität
min	5 - 10	10 - 15	15 - 20	20 - 25	25 - 30	10^{-5} * cm^2/s	cSt
Kontrolle ohne Zusatz	58,5 ± 2,1	35,4 ± 1,8	24,3 ± 0,6	17,2 ± 0,6	12,3 - 0,5	1,053 ± 0,020	0,73 ± 0,00
MC MH 300 32,5 g/l	51,6 ± 2,7	35,9 ± 1,8	25,5 ± 1,3	19,7 ± 1,0	15,0 ± 0,7	0,770	7960
Guar 11,0 g/l	50,9 ± 2,7	34,6 ± 1,7	24,2 ± 1,3	18,0 ± 0,9	13,6 ± 0,8	0,890	1405,20 ± 14,9

N = 24			Unterschied zw. Gruppen	zeitliche Änderung	
Durchblutung	1,09 ± 0,04	ml $min^{-1}g^{-1}$	-	+2,1 %	-
Darmfeuchtgewicht	345,6 ± 11,5	mg	-		
in situ-Länge	4,3 ± 0,1	cm	-	-2,1 %	**
in situ-Fläche	5,50 ± 0,13	cm^2	-	-4,0 %	-
in situ-Radius	2,06 ± 0,05	mm	-	-2,1 %	-

Tab. 10: Einfluß von Methylcellulose auf die Antipyrinresorption bei Verwendung eines Puffers ohne Na-cyclohexansulfamat. Applikation von 0,5 ml Puffer ohne und mit Zusatz von MC in eine abgebundene Jejunumschlinge der Ratte zum Zeitpunkt Null; Anfangskonzentration im Lumen 1 mmol/l; N = 8.

	Erscheinensrate im Darmvenenblut (nmol $min^{-1}g^{-1}$)					Diff.-Konstante	Viskosität
min	5 - 10	10 - 15	15 - 20	20 - 25	25 - 30	10^{-5} * cm^2/s	cSt
Kontrolle ohne Zus.	70,4 ± 4,4	41,4 ± 3,8	26,7 ± 3,2	17,2 ± 2,7	12,0 ± 1,7	1,145 ± 0,019	0,71 ± 0,00
MC MH 300 17,5 g/l	71,0 ± 5,4	46,0 ± 3,3	32,3 ± 2,4	23,3 ± 1,8	16,7 ± 1,6	0,825 ± 0,027	101,06 ± 0,48

N = 16			Unterschied zw. Gruppen	zeitliche Änderung	
Durchblutung	1,13 ± 0,06	ml $min^{-1}g^{-1}$	*	-3,6 %	**
Darmfeuchtgewicht	285,3 ± 12,9	mg	*		
in situ-Länge	3,9 ± 0,1	cm	*	-3,6 %	*
in situ-Fläche	5,66 ± 0,15	cm^2	*	-7,5 %	*
in situ-Radius	2,30 ± 0,05	mm	*	-4,2 %	*

Tab. 11: Einfluß von Methylcellulose MH 300, Carboxymethylcellulose-Na, Guar und Polyethylenglykol 35000 auf die Benzoesäureresorption. Applikation von 0,5 ml Puffer mit und ohne Zusatz von viskositätserhöhenden Substanzen in eine abgebundene Jejunumschlinge der Ratte zum Zeitpunkt Null; Anfangskonzentration im Lumen 1 mmol/l, N = 8.

	Erscheinensrate (nmol $min^{-1}g^{-1}$)					Diff.-Konstante	Viskosität
min	5 - 10	10 - 15	15 - 20	20 - 25	25 - 30	10^{-5} * cm^2/s	cSt
Kontrolle ohne Zus.	85,2 ± 5,6	37,0 ± 2,4	19,2 ± 1,1	10,7 ± 1,0	5,5 ± 0,9	1,233 ± 0,018	0,73 ± 0,00
MC MH 300 17,5 g/l	84,1 ± 6,5	44,3 ± 3,7	25,5 ± 1,9	16,5 ± 1,5	9,7 ± 1,1	1,039 ± 0,038	96,9 ± 0,25
CMC-Na 13,7 g/l	82,9 ±12,1	39,9 ± 5,9	22,0 ± 3,4	13,1 ± 2,4	7,2 ± 1,4	0,974 ± 0,011	92,68 ± 0,81
Guar 4,4 g/l	80,2 ± 5,6	42,7 ± 2,7	24,4 ± 1,9	14,8 ± 1,1	8,4 ± 0,7	1,182 ± 0,017	102,2 ± 0,22
PEG 35000 100,0 g/l	89,5 ± 9,3	48,0 ± 5,8	27,2 ± 3,6	15,2 ± 2,2	8,5 ± 1,2	0,824 ± 0,009	13,75 ± 0,02

N = 40			Unterschied zw. Gruppen	zeitliche Änderung	
Durchblutung	1,27 ± 0,05	ml $min^{-1}g^{-1}$	n	-7,8 %	***
Darmfeuchtgewicht	281,0 ± 9,6	mg	n		
in situ-Länge	4,2 ± 0,1	cm	n	-2,9 %	***
in situ-Fläche	5,90 ± 0,11	cm^2	*	-5,0 %	*
in situ-Radius	2,25 ± 0,03	mm	n	-2,5 %	n

Tab. 12: Einfluß von Methylcellulose MH 300, Carboxymethylcellulose-Na, Guar und Polyethylenglykol 35000 auf die α-Methyl-D-Glucosidresorption. Applikation von 0,5 ml Puffer ohne und mit Zusatz von viskositätserhöhenden Substanzen in eine abgebundene Jejunumschlinge der Ratte zum Zeitpunkt Null; Anfangskonzentration im Lumen 1 mmol/l; N = 8.

	Erscheinensrate im Darmvenenblut (nmol $min^{-1}g^{-1}$)					Diff.-Konstante	Viskosität
min	5 - 10	10 - 15	15 - 20	20 - 25	25 - 30	10^{-5} * cm^2/s	cSt
Kontrolle ohne Zus.	79,3 ± 5,1	45,1 ± 3,2	26,1 ± 2,2	16,9 ± 1,6	10,7 ± 1,3	0,990 ± 0,014	0,73 ± 0,00
MC MH 300 17,5 g/l	65,7 ± 5,7	41,3 ± 3,4	26,6 ± 2,2	18,0 ± 1,8	11,9 ± 1,3	0,848 ± 0,016	101,12 ± 1,09
CMC-Na 13,7 g/l	66,0 ± 6,2	42,5 ± 2,4	27,5 ± 1,6	18,5 ± 0,9	12,8 ± 0,8	0,878 ± 0,021	102,16 ± 3,17
Guar 4,4 g/l	62,3 ± 2,5	38,1 ± 2,2	23,7 ± 1,3	15,7 ± 1,3	10,0 ± 1,0	0,958 ± 0,017	104,29 ± 0,82
PEG 35000 100,0 g/l	71,9 ± 8,3	46,1 ± 5,2	28,0 ± 2,9	16,9 ± 2,2	11,1 ± 1,5	0,702 ± 0,014	13,02 ± 0,00

N = 40			Unterschied zw. Gruppen	zeitliche Änderung	
Durchblutung	1,02 ± 0,04	ml $min^{-1}g^{-1}$	n	-6,3 %	***
Darmfeuchtgewicht	379,2 ± 12,3	mg	n		
in situ-Länge	4,5 ± 0,1	cm	n	-2,1 %	*
in situ-Fläche	5,90 ± 0,13	cm^2	n	-4,5 %	n
in situ-Radius	2,10 ± 0,04	mm	n	-2,4 %	n

Tab. 13: Einfluß von Methylcellulose MH 300, Carboxymethylcellulose-Na, Guar und Polyethylenglykol 35000 auf die Harnstoffresorption. Applikation von 0,5 ml Puffer ohne und mit Zusatz von viskositätserhöhenden Substanzen in eine abgebundene Jejunumschlinge der Ratte zum Zeitpunkt Null; Anfangskonzentration im Lumen 1 mmol/l; N = 8.

	Erscheinensrate (nmol $min^{-1}g^{-1}$)					Diff.-Konstante	Viskosität
min	5 - 10	10 - 15	15 - 20	20 - 25	25 - 30	10^{-5} * cm^2/s	cSt
Kontrolle ohne Zus.	40,6 ± 3,6	35,1 ± 3,3	28,8 ± 2,6	23,7 ± 2,1	19,1 ± 1,8	1,630 ± 0,025	0,73 ± 0,00
MC MH 300 17,5 g/l	30,1 ± 3,3	27,3 ± 2,5	22,8 ± 2,0	18,6 ± 2,1	14,6 ± 1,8	1,530 ± 0,026	104,05 ± 0,31
CMC-Na 13,7 g/l	30,1 ± 3,5	27,1 ± 2,9	23,2 ± 2,2	19,5 ± 2,0	16,9 ± 1,9	1,524 ± 0,020	99,23 ± 1,47
Guar 4,4 g/l	32,5 ± 4,3	29,8 ± 4,1	25,2 ± 3,7	21,7 ± 3,1	17,0 ± 2,4	1,488 ± 0,028	107,76 ± 0,80
PEG 35000 100,0 g/l	37,2 ± 3,3	33,4 ± 2,6	27,4 ± 2,1	22,5 ± 1,8	18,6 ± 1,4	1,215 ± 0,025	13,10 ± 0,04

N = 40			Unterschied zw. Gruppen	zeitliche Änderung	
Durchblutung	1,22 ± 0,05	ml $min^{-1}g^{-1}$	*	-7,0 %	***
Darmfeuchtgewicht	316,8 ± 13,9	mg	*		
in situ-Länge	4,5 ± 0,1	cm	*	-2,3 %	*
in situ-Fläche	5,68 ± 0,14	cm^2	*	-2,3 %	*
in situ-Radius	2,03 ± 0,05	mm	*	0,0 %	*

Tab. 14: Einfluß von Methylcellulose MH 300, Carboxymethylcellulose-Na, Guar und Polyethylenglykol 35000 auf die Benzylaminresorption. Applikation von 0,5 ml Puffer ohne und mit Zusatz von viskositätserhöhenden Substanzen in eine abgebundene Jejunumschlinge der Ratte zum Zeitpunkt Null; Anfangskonzentration im Lumen 1 mmol/l; N = 8.

	Erscheinensrate (nmol $min^{-1}g^{-1}$)					Diff.-Konstante	Viskosität
min	5 - 10	10 - 15	15 - 20	20 - 25	25 - 30	10^{-5} * cm^2/s	cSt
Kontrolle ohne Zus.	35,9 ± 3,8	35,8 ± 3,6	32,7 ± 3,3	29,4 ± 2,8	24,7 ± 2,3	1,289 ± 0,038	0,73 ± 0,00
MC MH 300 17,5 g/l	35,8 ± 4,5	36,8 ± 3,5	34,9 ± 3,1	33,2 ± 2,3	27,4 ± 2,0	1,222 ± 0,028	97,36 ± 0,86
CMC-Na 13,7 g/l	38,2 ± 3,6	41,9 ± 3,4	41,0 ± 3,5	34,5 ± 3,7	27,9 ± 3,0	1,139 ± 0,021	111,65
Guar 4,4 g/l	50,3 ± 7,3	48,1 ± 6,0	42,8 ± 4,7	38,0 ± 4,1	30,6 ± 2,9	1,190 ± 0,019	112,72 ± 2,02
PEG 35000 100,0 g/l	49,2 ± 7,4	47,7 ± 6,5	41,3 ± 4,9	34,3 ± 3,2	27,6 ± 2,2	0,885 ± 0,014	13,51 ± 0,00

N = 40			Unterschied zw. Gruppen	zeitliche Änderung	
Durchblutung	1,36 ± 0,05	ml $min^{-1}g^{-1}$	*	-2,5 %	*
Darmfeuchtgewicht	272,2 ± 10,8	mg	*		
in situ-Länge	4,3 ± 0,1	cm	*	-3,5 %	***
in situ-Fläche	5,75 ± 0,14	cm^2	*	-4,4 %	**
in situ-Radius	2,18 ± 0,05	mm	*	-1,2 %	*

Erläuterungen zu Tabelle 15 und 16:

Regressionsanalyse:

Es liegen jeweils mehrere Gruppen von Geraden vor.

Test 1: Prüfung auf Parallelität der Einzelgeraden innerhalb der Gruppen (Prüfung, ob für jedes Tier ein individueller Regressionskoeffizient vorliegt).

Test 2: Prüfung, ob sich die mittlere Steigung der Geraden zwischen den Gruppen unterscheidet (Prüfung des Einflusses der hydrophilen Polymere auf die Steilheit der Geraden).

Test 3: Prüfung, ob zwischen den Gruppen der Geraden in vertikaler Richtung ein Unterschied besteht (Prüfung des Einflusses der hydrophilen Polymere auf die Lage der Geraden).

Varianzanalyse der Regressionskoeffizienten der Einzelgeraden

Test 4: Prüfung, ob zwischen den Gruppen ein Unterschied besteht.

Test 5: Prüfung, ob zwischen Kontrollgruppe ohne Zusatz und den zusammengefaßten Gruppen mit Zusatz ein Unterschied besteht.

Test 6: Dunnett-Test (Vergleich jeder Gruppe mit der Kontrolle).

Linearer Kontrast: Prüfung, ob ein linearer Zusammenhang zwischen MC-Gehalt und Regressionskoeffizient besteht.

Tab.15: Regressionsanalyse der zeitlichen Abhängigkeit der Antipyrinresorption. Ordinate: log Erscheinensrate (ln nmol $min^{-1}g^{-1}$); Abszisse: Zeit (min); b = Regressionskoeffizient ohne negatives Vorzeichen (10^{-2} min^{-1}); a = Achsenabschnitt (ln nmol $min^{-1}g^{-1}$).

	steigende Konzentration von Methylcellulose	
	b	a
Kontrolle ohne Zus.	8,62 ± 0,23	4,81 ± 0,07
MC MH 300 4,4 g/l	7,45 ± 0,34	4,75 ± 0,08
MC MH 300 8,8 g/l	7,77 ± 0,33	4,78 ± 0,07
MC MH 300 13,1 g/l	7,82 ± 0,41	4,64 ± 0,07
MC MH 300 17,5 g/l	8,16 ± 0,45	4,74 ± 0,12

	verschiedene viskositätserhöhende Substanzen	
	b	a
Kontrolle ohne Zus.	8,79 ± 0,23	4,84 ± 0,05
MC MH 300 17,5 g/l	8,16 ± 0,45	4,74 ± 0,12
CMC-Na 13,7 g/l	7,59 ± 0,31	4,80 ± 0,09
Guar 4,4 g/l	7,89 ± 0,33	4,76 ± 0,15
PEG 35000 100,0 g/l	6,56 ± 0,24	4,45 ± 0,09
MC MH 1000 12,3 g/l	7,93 ± 0,28	4,78 ± 0,09
Na-Alginat 11,8 g/l	7,98 ± 0,46	4,91 ± 0,11
PVP 120,0 g/l	8,10 ± 0,52	4,73 ± 0,09

	hohe MC- und Guarkonzentration	
	b	a
Kontrolle ohne Zus.	7,68 ± 0,20	4,55 ± 0,05
MC MH 300 32,5 g/l	6,15 ± 0,11	4,34 ± 0,06
Guar 4,4 g/l	6,58 ± 0,18	4,35 ± 0,06
	NaCHS-freier Puffer	
	b	a
Kontrolle ohne Zus.	8,83 ± 0,48	4,82 ± 0,05
MC MH 300	7,18 ± 0,30	4,72 ± 0,08

TEST 1	$F_{35,120}$ = 2,88 ***	$F_{70,240}$ = 3,950 ***	hohe MC- und Guarkonzentration: $F_{21,72}$ = 2,61 **
TEST 2	$F_{4,35}$ = 1,32 ø	$F_{9,70}$ = 4,330 ***	$F_{2,21}$ = 9,44 **
TEST 3	$F_{4,35}$ = 0,92 ø	$F_{9,70}$ = 0,990 ø	$F_{2,21}$ = 0,52 ø
TEST 4		$F_{9,70}$ = 3,360 **	$F_{2,21}$ = 22,56 ***
TEST 5	$F_{1,35}$ = 4,24 *	$F_{1,70}$ = 17,840 ***	$F_{1,21}$ = 41,69 ***
TEST 6		PEG **	MC ** Guar **
lin. Kontrast	$F_{1,35}$ = 0,25 ø		NaCHS-freier Puffer: $F_{14,48}$ = 5,87 **
			$F_{1,14}$ = 8,43 *
			$F_{1,14}$ = 1,92 ø
			$F_{1,14}$ = 8,55 *

Tab.16: Regressionsanalyse der zeitlichen Abhängigkeit der Benzoesäure-, α-Methyl-D-Glucosid-, Harnstoff- und Benzylaminresorption. Ordinate: log Erscheinensrate (ln nmol $min^{-1}g^{-1}$); Abszisse: Zeit (min); b = Regressionskoeffizient ohne negatives Vorzeichen (ln nmol $min^{-1}g^{-1}$); a = Achsenabschnitt (ln nmol $min^{-1}g^{-1}$)

	Benzoesäure		α-Methyl-D-Glucosid		Harnstoff		Benzylamin[1]	
	b	a	b	a	b	a	b	a
Kontrolle ohne Zus.	13,50 ± 0,95	5,31 ± 0,13	9,98 ± 0,38	5,03 ± 0,05	3,81 ± 0,43	4,00 ± 0,12	2,44 ± 0,27	3,89 ± 0,12
MC MH 300 17,5 g/l	10,64 ± 0,47	5,12 ± 0,09	8,48 ± 0,59	4,76 ± 0,11	3,66 ± 0,20	3,71 ± 0,09	1,86 ± 0,31	3,86 ± 0,12
CMC-Na 13,7 g/l	12,02 ± 0,65	5,19 ± 0,15	8,23 ± 0,42	4,75 ± 0,10	2,97 ± 0,37	3,64 ± 0,12	2,78 ± 0,57	4,12 ± 0,11
Guar 4,4 g/l	11,19 ± 0,28	5,14 ± 0,07	9,09 ± 0,04	4,75 ± 0,04	3,23 ± 0,22	3,75 ± 0,13	2,95 ± 0,37	4,25 ± 0,16
PEG 100,0 g/l	11,70 ± 0,55	5,29 ± 0,13	9,50 ± 0,64	4,95 ± 0,14	3,58 ± 0,16	3,90 ± 0,09	3,64 ± 0,46	4,32 ± 0,19
TEST 1	$F_{35,120}$ = 10,78 ***		$F_{35,120}$ = 5,67 ***		$F_{35,120}$ = 6,04 ***		$F_{35,80}$ = 3,23 ***	
TEST 2	$F_{4,35}$ = 3,19 *		$F_{4,35}$ = 5,06 **		$F_{4,35}$ = 1,36 n		$F_{4,35}$ = 2,92 *	
TEST 3	$F_{4,35}$ = 1,37 n		$F_{4,35}$ = 0,54 n		$F_{4,35}$ = 1,09 n		$F_{4,35}$ = 1,12 n	
TEST 4	$F_{4,35}$ = 3,04 *		$F_{4,35}$ = 2,09 n		$F_{4,35}$ = 1,36 n		$F_{4,35}$ = 2,55 n	
TEST 5	$F_{1,35}$ = 9,28 **		$F_{1,35}$ = 4,28 *		$F_{1,35}$ = 1,87 n		$F_{1,35}$ = 0,66 n	
TEST 6	MC ** Guar *			n		n		n

1) wegen Krümmung im Anfangsteil der Kurve wurden nur die letzten 4 Perioden zur Analyse verwendet.

Tab.17: Einfluß von Methylcellulose MH 300, Carboxymethylcellulose-Na, Guar, Polyethylenglykol 35000, Na-Alginat und Polyvinylpyrrolidon auf den Wassernettoflux. Applikation von 0,5 ml Puffer mit und ohne Zusatz von Hydrogelbildner in eine abgebundene Jejunumschlinge der Ratte, Markersubstanz Polyethylenglykol 4000, Versuchsdauer 30 min, N = 8.

	Wassernettoflux ($\mu l\ min^{-1} g^{-1}$)
Kontrolle ohne Zusatz	-7,53 ± 2,25
MC MH 300 17,5 g/l	-9,84 ± 3,65
CMC-Na 13,7 g/l	-12,71 ± 1,73
Guar 4,4 g/l	-12,19 ± 3,85
PEG 100,0 g/l	-2,51 ± 0,75
Na-Alginat 11,8 g/l	-8,02 ± 1,45
PVP 120,0 g/l	-5,46 ± 1,05
Versuchsdauer 1 min N = 14	-2,30 ± 0,70

Vergleiche: Dunnett-Test (gegen Kontrolle), jeweils P) 0,05 *
Varianzanalyse zwischen Gruppen 0,01 (P (0,05 **
Tukey-Test *

			Unterschied zw. Gruppen	zeitliche Änderung
Darmfeuchtgewicht	316,3 ± 6,8	mg	*	
in situ-Länge	4,1 ± 0,1	cm	*	-4,9 % *
in situ-Fläche	5,35 ± 0,06	cm^2	*	-5,8 % *
in situ-Radius	2,09 ± 0,04	mm	*	-2,1 % *

Erläuterungen zu den Tabellen 18 - 25

Modellanalyse

Modell Af: 1-Kompartimentmodell mit P_T und f als zu bestimmende Parameter

Modell Bf, Br: Modelle mit radialer intraluminaler Diffusion, P_Z und f bzw. R als zu bestimmende Parameter

P_T = Permeabilitätskoeffizient für den Permeationsweg Darmlumen - Blut, in 10^{-4}cm/s angegeben

f = Anteil der permeierenden Substanzmoleküle, die im Blut erscheinen

P_Z = Permeabilitätskoeffizient für den Permeationsweg Mukosaoberfläche - Blut in 10^{-4} cm/s oder in der Form zB. 1,18 E-1 = 1,18 x 10^{-1} cm/s angegeben

R' = intraluminaler Radius, bestimmt aus Modellanalyse (cm)

R = intraluminaler Radius, bestimmt in situ (cm)

AIC = Akaike's information criterion (je kleiner, umso besser die Anpassung)

B = Bestimmungsmaß (Anteil der Variabilität, die durch Modellfunktion erklärt werden kann), entspricht dem Quadrat des Korrelationskoeffizienten bei der linearen Regression

Test 7: Prüfung auf Unterschied zwischen den Gruppen

Test 8: Prüfung auf Unterschied zwischen Kontrolle und den Gruppen mit Polymerzusatz (zusammengefaßt)

Test 9: Prüfung auf Unterschied zwischen den Gruppen mit Polymerzusatz

Signifikanzgrenzen: siehe Erläuterungen zu Tabelle 2 - 5

Tab.18: Modellanalyse der zeitlichen Abhängigkeit der Antipyrinresorption unter dem Einfluß von Methylcellulose MH 300.

Modell		Af		Bf		Br
Kontrolle	P_T	1,54 ± 0,07	P_2	31,42 ± 47,43	P_2	4,82 ± 1,27
ohne Zus.	f	0,86 ± 0,03	f	1,13 ± 0,07	R'	0,188 ± 0,010
					R	0,215 ± 0,006
	AIC	5,44		86,52		-1,43
	B	0,9414		0,9366		0,9507
MC MH 300	P_T	1,35 ± 0,04	P_2	5,50 ± 0,96	P_2	4,69 ± 0,78
4,4 g/l	f	0,85 ± 0,02	f	1,03 ± 0,03	R'	0,204 ± 0,007
					R	0,222 ± 0,010
	AIC	-34,61		-26,54		-32,83
	B	0,9712		0,9647		0,9699
MC MH 300	P_T	1,35 ± 0,04	P_2	6,23 ± 1,46	P_2	2,60 ± 0,37
8,8 g/l	f	0,91 ± 0,02	f	1,11 ± 0,04	R'	0,174 ± 0,008
					R	0,216 ± 0,009
	AIC	-25,73		-19,83		-39,54
	B	0,9659		0,9605		0,9759
MC MH 300	P_T	1,30 ± 0,04	P_2	6,94 ± 1,57	P_2	2,67 ± 0,44
13,1 g/l	f	0,90 ± 0,02	f	1,12 ± 0,04	R'	0,171 ± 0,009
					R	0,201 ± 0,007
	AIC	-31,28		-32,47		-28,15
	B	0,9704		0,9713		0,9680
MC MH 300	P_T	1,35 ± 0,04	P_2	6,79 ± 1,54	P_2	2,73 ± 0,56
17,5 g/l	f	0,91 ± 0,02	f	1,12 ± 0,04	R'	0,165 ± 0,011
					R	0,200 ± 0,011
	AIC	-26,32		-11,58		-13,67
	B	0,9691		0,9554		0,9576
TEST 7	$F_{8,190}$ = 5,58 ***		$F_{8,190}$ = 4,05 ***		$F_{8,190}$ = 3,50 ***	
TEST 8	$F_{2,190}$ = 17,74 ***		$F_{2,190}$ = 6,73 ***		$F_{2,190}$ = 5,82 **	
TEST 9	$F_{6,152}$ = 1,95 n		$F_{6,152}$ = 3,88 ***		$F_{6,152}$ = 3,23 **	

Tab.19: Modellanalyse der zeitlichen Abhängigkeit der Antipyrinresorption unter dem Einfluß von hydrophilen Polymeren.

Modell	Af	Bf	Br
Kontrolle	P_T 1,57 ± 0,03	P_Z 26,65 ± 14,90	P_Z 5,15 ± 0,78
ohne Zus.	f 0,84 ± 0,14	f 1,10 ± 0,03	R' 0,187 ± 0,006
			R 0,219 ± 0,005
	AIC 113,26	134,65	114,70
	B 0,9514	0,9419	0,9508
MC MH 300	P_T 1,35 ± 0,04	P_Z 6,79 ± 1,54	P_Z 2,73 ± 0,56
17,5 g/l	f 0,91 ± 0,02	f 1,12 ± 0,04	R' 0,165 ± 0,011
			R 0,200 ± 0,011
	AIC -26,32	-11,58	-13,67
	B 0,9691	0,9554	0,9576
CMC-Na	P_T 1,43 ± 0,05	P_Z 1,92±173,77 E-1	P_Z 3,94 ± 0,71
13,7 g/l	f 0,86 ± 0,02	f 1,17 ± 0,06	R' 0,189 ± 0,008
			R 0,226 ± 0,008
	AIC -22,0	-14,44	-24,19
	B 0,9610	0,9529	0,9631
Guar	P_T 1,38 ± 0,06	P_Z 6,88 ± 2,34	P_Z 4,37 ± 0,81
4,4 g/l	f 0,85 ± 0,02	f 1,04 ± 0,05	R' 0,191 ± 0,008
			R 0,220 ± 0,010
	AIC -5,23	0,62	-24,83
	B 0,9515	0,9438	0,9703
PEG	P_T 1,18 ± 0,15	1)	1)
100,0 g/l	f 0,67 ± 0,04		
			R 0,222 ± 0,007
	AIC 68,94		
	B 0,5887		

1) Rechnungen nicht konvergiert.

Fortsetzung Tab.19

Modell		Af		Bf		Br
MC MH 1000	P_T	1,33 ± 0,05	P_2	5,86 ± 1,69	P_2	2,17 ± 0,38
12,3 g/l	f	0,92 ± 0,02	f	1,10 ± 0,05	R'	0,162 ± 0,011
					R	0,207 ± 0,006
	AIC	-14,12		-3,39		-30,02
	B	0,9549		0,9410		0,9697
Na-Alginat	P_T	1,27 ± 0,05	P_2	3,38 ± 0,60	P_2	2,47 ± 0,47
11,8 g/l	f	0,91 ± 0,02	f	1,03 ± 0,04	R'	0,168 ± 0,109
					R	0,203 ± 0,010
	AIC	-2,25		13,59		-19,39
	B	0,9411		0,9125		0,9617
PVP	P_T	1,48 ± 0,05	P_2	6,78±544,27 E-2	P_2	4,86 ± 1,20
120,0 g/l	f	0,82 ± 0,02	f	1,13 ± 0,17	R'	0,149 ± 0,006
					R	0,219 ± 0,004
	AIC	-18,16		33,73		-17,06
	B	0,9607		0,8563		0,9596
TEST 7	$F_{14,384}$ =	9,90 ***	$F_{12,346}$ =	11,07 ***	$F_{12,346}$ =	8,72 ***
TEST 8	$F_{2,384}$ =	18,30 ***	$F_{2,346}$ =	43,02 ***	$F_{2,346}$ =	10,63 ***
TEST 9	$F_{12,266}$ =	7,53 ***	$F_{10,228}$ =	4,57 ***	$F_{10,228}$ =	9,81 ***

Tab.20: Modellanalyse der zeitlichen Abhängigkeit der Antipyrinresorption unter dem Einfluß einer hohen Konzentration von Methylcellulose MH 300 und Guar.

Modell	Af	Bf	Br
Kontrolle	P_T 1,25 ± 0,04	P_Z 3,32 ± 0,32	P_Z 6,04 ± 1,00
ohne Zus.	f 0,83 ± 0,02	f 0,95 ± 0,02	R' 0,208 ± 0,006
			R 0,201 ± 0,009
	AIC -34,25	-26,63	-44,06
	B 0,9687	0,9622	0,9755
MC MH 300	P_T 1,04 ± 0,02	P_Z 3,95 ± 0,49	P_Z 6,10 ± 0,56
17,5 g/l	f 0,81 ± 0,01	f 0,97 ± 0,02	R' 0,213 ± 0,003
			R 0,204 ± 0,006
	AIC -72,33	-70,62	-96,40
	B 0,9821	0,9813	0,9902
Guar	P_T 1,13 ± 0,04	P_Z 3,50 ± 0,46	P_Z 5,53 ± 0,86
4,4 g/l	f 0,83 ± 0,01	f 0,97 ± 0,02	R' 0,213 ± 0,006
			R 0,212 ± 0,009
	AIC -35,82	-35,82	-43,87
	B 0,9611	0,9611	0,9682
TEST 7	$F_{4,114}$= 5,71 ***	$F_{4,114}$= 0,44 n	$F_{4,114}$= 0,65 n
TEST 8	$F_{2,114}$= 9,41 ***	$F_{2,114}$= 0,70 n	$F_{2,114}$= 1,12 n
TEST 9	$F_{2,\ 76}$= 2,34 n	$F_{2,\ 76}$= 0,23 n	$F_{2,\ 76}$= 0,21 n

Tab.21: Modellanalyse der zeitlichen Abhängigkeit der Antipyrinresorption unter dem Einfluß von Methylcellulose MH 300 in Na-cyclohexansulfamatfreiem Puffer. Siehe dazu die Ergebnisse mit NaCHS-haltigem Puffer in Tab.19.

Modell		Af		Bf		Br
Kontrolle	P_T	1,70 ± 0,13	P_2	7,93E-2	P_2	1,65 ± 2,06
ohne Zus.	f	0,78 ± 0,05	f	1,04 ± 0,12	R'	0,211 ± 0,02
					R	0,229 ± 0,009
	AIC	58,44		61,68		59,60
	B	0,8009		0,7841		0,7950
MC MH 300	P_T	1,41 ± 0,04	P_2	8,39E6	P_2	3,63 ± 0,59
17,5 g/l	f	0,87 ± 0,02	f	1,17 ± 0,02	R'	0,184 ± 0,007
					R	0,231 ± 0,007
	AIC	-36,29		-23,06		-29,25
	B	0,9697		0,9500		0,9639

TEST 7	$F_{6,152}$= 7,80 ***	$F_{2,76}$= 3,29 *	$F_{6,152}$= 2,10 ø
NaCHS-Einfl.	$F_{2,152}$= 6,93 **		
MC-Einfluß	$F_{2,152}$=16,43 ***		
Wechselwir-	$F_{2,152}$= 0,04 ø		
kung MC/NaCHS-			
Einfluß			

Tab.22: Modellanalyse der zeitlichen Abhängigkeit der Benzoesäureresorption unter dem Einfluß von Methylcellulose MH 300, Carboxymethylcellulose-Na, Guar und Polyethylenglykol 35000.

Modell		Af		Bf		Br
Kontrolle	P_T	2,53 ± 0,12	P_2	1,18E0	P_2	6,97 ± 4,46
ohne Zus.	f	0,83 ± 0,06	f	1,13 ± 0,25	R'	0,161 ± 0,016
					R	0,225 ± 0,005
	AIC	48,32		102,48		51,74
	B	0,9224		0,6993		0,9154
MC MH 300	P_T	2,04 ± 0,04	P_2	1,61E0	P_2	3,36 ± 0,83
17,5 g/l	f	0,89 ± 0,02	f	1,14 ± 0,08	R'	0,153 ± 0,011
					R	0,233 ± 0,007
	AIC	-43,19		41,38		-8,17
	B	0,9876		0,8977		0,9704
CMC-Na	P_T	2,26 ± 0,11	P_2	2,40E-1	P_2	8,05 ± 5,28
13,7 g/l	f	0,80 ± 0,05	f	1,09 ± 0,24	R'	0,157 ± 0,012
					R	0,227 ± 0,005
	AIC	40,78		95,79		43,22
	B	0,9314		0,7284		0,9270
Guar	P_T	2,00 ± 0,05	2)		P_2	5,70 ± 1,22
4,4 g/l	f	0,83 ± 0,02			R'	0,171 ± 0,006
					R	0,221 ± 0,008
	AIC	-15,69				-27,56
	B	0,9769				0,9828
PEG	P_T	2,04 ± 0,11	P_2	2,05E6	P_2	7,70 ± 5,10
100,0 g/l	f	0,78 ± 0,05	f	0,84 ± 0,06	R'	0,147 ± 0,011
					R	0,217 ± 0,009
	AIC	47,70		84,46		42,32
	B	0,9068		0,7665		0,9186
TEST 7	$F_{8,190}$ =	8,55 ***	1)		$F_{8,190}$ =	11,58 ***
TEST 8	$F_{2,190}$ =	22,18 ***			$F_{2,190}$ =	4,50 *
TEST 9	$F_{6,152}$ =	4,73 ***			$F_{6,152}$ =	16,83 ***

1) Test nicht durchführbar, da Parameterschätzung wegen Annäherung an unendlich unsicher

2) Rechnungen nicht konvergiert

Tab.23: Modellanalyse der zeitlichen Abhängigkeit der α-Methyl-D-Glucosid-resorption unter dem Einfluß verschiedener hydrophiler Polymere.

Modell		Af		Bf		Br
Kontrolle	P_T	1,72 ± 0,04	P_2	2,83E-1	1)	
ohne Zus.	f	1,09 ± 0,02	f	1,39 ± 0,03		
					R	0,207 ± 0,006
	AIC	-38,12		-2,88		
	B	0,9842		0,9619		
MC MH 300	P_T	1,42 ± 0,05	P_2	14,63 ±12,08	1)	
17,5 g/l	f	1,01 ± 0,03	f	1,28 ± 0,07		
					R	0,213 ± 0,010
	AIC	-7,84		9,21		
	B	0,9558		0,9329		
CMC-Na	P_T	1,34 ± 0,06	P_2	6,62 ± 2,60	P_2	0,99 ± 0,50
13,7 g/l	f	0,97 ± 0,03	f	1,19 ± 0,06	R'	0,109 ± 0,034
					R	0,208 ± 0,010
	AIC	5,82		17,08		-6,27
	B	0,9290		0,9060		0,9475
Guar	P_T	1,54 ± 0,03	P_2	29,61 ±28,90	1)	
4,4 g/l	f	1,08 ± 0,02	f	1,40 ± 0,06		
					R	0,209 ± 0,008
	AIC	-51,03		-17,98		
	B	0,9859		0,9678		
PEG	P_T	1,69 ± 0,08	P_2	5,38E-1	1)	
100,0 g/l	f	1,02 ± 0,04	f	1,33 ± 0,15		
					R	0,214 ± 0,011
	AIC	21,84		59,84		
	B	0,9289		0,8160		

TEST 7	$F_{8,190}$= 6,48 ***	$F_{8,190}$= 3,60 ***
TEST 8	$F_{2,190}$= 7,56 ***	$F_{2,190}$= 3,15 *
TEST 9	$F_{6,152}$= 5,38 ***	$F_{6,152}$= 3,59 **

1) Rechnungen nicht konvergiert.

Tab.24: Modellanalyse der zeitlichen Abhängigkeit der Harnstoffresorption unter dem Einfluß verschiedener hydrophiler Polymere.

Modell	Af	Bf	Br
Kontrolle	P_T 0,67 ± 0,04	P_2 0,84 ± 0,06	P_2 4,59 ± 1,49
ohne Zus.	f 0,80 ± 0,01	f 0,82 ± 0,01	R' 0,392 ± 0,012
			R 0,205 ± 0,010
	AIC -51,06	-48,45	-47,23
	B 0,9488	0,9444	0,9423
MC MH 300	P_T 0,73 ± 0,07	P_2 0,99 ± 0,14	P_2 5,46 ± 3,26
17,5 g/l	f 0,79 ± 0,03	f 0,82 ± 0,03	R' 0,384 ± 0,023
			R 0,222 ± 0,011
	AIC -11,06	-8,05	-15,45
	B 0,8504	0,8356	0,8696
CMC-Na	P_T 0,55 ± 0,07	P_2 0,69 ± 0,10	P_2 1,77 ± 0,81
13,7 g/l	f 0,82 ± 0,04	f 0,83 ± 0,04	R' 0,385 ± 0,034
			R 0,203 ± 0,007
	AIC -16,28	-15,72	-14,88
	B 0,8471	0,8444	0,8403
Guar	P_T 0,58 ± 0,08	P_2 0,73 ± 0,13	P_2 3,58 ± 3,32
4,4 g/l	f 0,75 ± 0,04	f 0,76 ± 0,04	R' 0,441 ± 0,021
			R 0,197 ± 0,011
	AIC 2,69	3,76	3,02
	B 0,8377	0,8323	0,8361
PEG	P_T 0,64 ± 0,05	P_2 0,86 ± 0,09	P_2 5,93 ± 4,32
100,0 g/l	f 0,75 ± 0,02	f 0,78 ± 0,02	R' 0,380 ± 0,018
			R 0,190 ± 0,015
	AIC -24,21	-18,25	-34,26
	B 0,8559	0,8263	0,8947
TEST 7	$F_{8,150}$= 2,76 **	$F_{8,150}$= 2,43 *	$F_{8,150}$= 1,48 ø
TEST 8	$F_{2,150}$= 1,85 ø	$F_{2,150}$= 2,77 ø	$F_{2,150}$= 0,30 ø
TEST 9	$F_{6,120}$= 2,63 *	$F_{6,120}$= 2,32 *	$F_{6,120}$= 1,62 ø

Tab.25: Modellanalyse[1] der zeitlichen Abhängigkeit der Benzylaminresorption unter dem Einfluß verschiedener hydrophiler Polymere.

Modell		Af		Bf		Br
Kontrolle	P_T	0,68 ± 0,12	P_2	1,03 ± 0,25	2)	
ohne Zus.	f	1,03 ± 0,05	f	1,07 ± 0,04		
					R	0,219 ± 0,011
	AIC	-7,98		-5,99		
	B	0,6730		0,6446		
MC MH 300	P_T	0,55 ± 0,09	P_2	0,75 ± 0,16	2)	
17,5 g/l	f	1,13 ± 0,06	f	1,15 ± 0,05		
					R	0,197 ± 0,010
	AIC	-16,08		-13,47		
	B	0,6585		0,6193		
CMC-Na	P_T	0,75 ± 0,25	P_2	1,29 ± 0,74	2)	
13,7 g/l	f	0,96 ± 0,07	f	1,02 ± 0,06		
					R	0,230 ± 0,008
	AIC	19,45		19,69		
	B	0,1724		0,1642		
Guar	P_T	0,68 ± 0,05	P_2	1,09 ± 0,11	2)	
4,4 g/l	f	1,14 ± 0,02	f	1,19 ± 0,02		
					R	0,217 ± 0,014
	AIC	-50,25		-45,32		
	B	0,9548		0,9445		
PEG	P_T	0,87 ± 0,11	P_2	4,00 ± 2,01	2)	
100,0 g/l	f	1,01 ± 0,03	f	1,28 ± 0,09		
					R	0,225 ± 0,010
	AIC	-13,26		-12,68		
	B	0,7857		0,7805		
TEST 7	$F_{8,110}$=	1,74 *	$F_{8,110}$=	2,85 **		
TEST 8	$F_{2,110}$=	0,42 *	$F_{2,110}$=	1,31 *		
TEST 9	$F_{6,88}$=	2,17 *	$F_{6,88}$=	3,27 **		

1) Die Analyse erfolgte mit den Werten für die letzten 3 Perioden.

2) Rechnungen nicht konvergiert.

Tab. 26: Einfluß steigender Konzentrationen von Methylcellulose MH 300 und MH 1000 auf die Diffusionskonstante (10^{-5} cm^2/s) von Antipyrin in Pufferlösung 2 und 1 bei 38°C.

MC MH 300 g/l		0,0		4,4		8,8		13,1		17,5
	N		N		N		N		N	
Pufferlösung 2	9	1,053 ±0,020	9	1,023 ±0,016	8	0,980 ±0,011	9	0,929 ±0,012	8	0,908 ±0,023
Pufferlösung 1	8	1,145 ±0,019	9	1,059 ±0,021	9	0,998 ±0,015	8	0,926 ±0,012	9	0,825 -0,027

MC MH 1000 g/l		0,0		3,1		6,2		12,3
	N		N		N		N	
Pufferlösung 1	8	1,145 ±0,019	9	1,079 ±0,033	8	0,957 ±0,011	7	0,836 ±0,016

Tab. 27: Diffusionskonstanten (10^{-5} cm^2/s) von Antipyrin, Benzoesäure, α-Methyl-D-Glucosid, Harnstoff und Benzylamin in Pufferlösung mit und ohne Zusatz hydrophiler Polymere, Temperatur 38°C.

	N	Antipyrin	N	Benzoesäure	N	α-M-D-Gl.	N	Harnstoff	N	Benzylamin
Kontrolle ohne Zus.	9	1,053 ±0,020	6	1,233 ±0,018	9	0,990 ±0,014	8	1,630 ±0,025	7	1,289 ±0,038
MC MH 300 17,5 g/l	8	0,908 ** ±0,023	9	1,039 ** ±0,038	9	0,848 ** ±0,016	8	1,530 * ±0,026	9	1,222 ø ±0,028
CMC-Na 13,7 g/l	9	0,934 ** ±0,019	4	0,974 ** ±0,011	8	0,878 ** ±0,021	8	1,524 * ±0,020	9	1,139 * ±0,021
Guar 4,4 g/l	9	0,989 ø ±0,040	9	1,182 ø ±0,017	9	0,958 ø ±0,017	8	1,488 ** ±0,028	9	1,190 * ±0,019
PEG 100,0 g/l	9	0,675 ** ±0,010	9	0,824 ** ±0,009	9	0,702 ** ±0,014	8	1,215 ** ±0,025	9	0,885 ** ±0,014
MC MH 1000 12,3 g/l	9	0,964 * ±0,021								
Na-Alginat 11,8 g/l	7	0,964 * ±0,015								
PVP 120,0 g/l	9	0,576 ** ±0,008								

Vergleich gegen Kontrolle mit Dunnett-Test

Tab. 28: Konzentrationsquotient von Antipyrin, Benzoesäure, α-Methyl-D-Glucosid, Harnstoff und Benzylamin zwischen Pufferlösung und Lösungen mit Methylcellulose MH 300 und 1000, Carboxymethylcellulose-Na, Guar und Na-Alginat nach Gleichgewichtsdialyse. Quotient: Aktivität in Pufferlösung ohne dividiert durch die Aktivität in Pufferlösung mit Zusatz.

		Antipyrin		Benzoesäure		α-M-D-Gl.		Harnstoff		Benzylamin
	N		N		N		N		N	
MC MH 300	9	0,9916 ø	8	0,9987 ø	9	0,9914 ø	10	0,9550 ø	9	0,9818 ø
17,5 g/l		±0,0148		±0,0135		±0,0157		±0,0258		±0,0115
CMC-Na	9	1,0197 *	9	1,1055 **	8	1,0228 *	10	0,9903 ø	8	0,8956 ***
13,7 g/l		±0,0077		±0,0214		±0,0085		±0,0163		±0,0065
Guar	10	0,9954 ø	9	0,9929 ø	9	0,9825 *	10	0,9764 ø	10	0,9548 **
4,4 g/l		±0,0073		±0,0061		±0,0068		±0,0132		0,0112
MC MH 1000	9	0,9464 **								
12,3 g/l		±0,0143								
Na-Alginat	10	1,0256 ***								
11,8 g/l		±0,0052								

t-Test auf signifikante Abweichungen des Quotienten vom Wert Eins

Tab.29: Viskositätsmeßwerte der für die Diffusionsversuche verwendeten Lösungen hydrophiler Polymere (in cSt).

	g/l	N	Pufferlösung 1	N	Pufferlösung 2
MC MH 300	4,4	5	3,70 ± 0,00	3	3,49 ± 0,00
"	8,8	5	10,39 ± 0,01	3	14,11 ± 0,05
"	13,1	5	41,14 ± 0,04	3	41,36 ± 0,40
"	17,5	5	97,94 ± 0,35	9	106,43 ± 0,96
MC MH 1000	3,1	5	3,11 ± 0,01		
"	6,2	5	14,15 ± 0,02		
"	12,3	5	107,59 ± 0,15	3	105,14 ± 0,29
CMC-Na	13,7			5	98,77 ± 1,07
Guar	4,4			9	102,14 ± 1,28
PEG 35000	100,0			9	14,10 ± 0,09
Na-Alginat	11,8			3	96,14 ± 0,03
PVP	120,0			5	3,84 ± 0,00

3. Chemikalien

Paraffin subliq.: Universitätsapotheke, Tübingen.
Urethan, DAB 6, verwendet als 25%ige Lösung g/v: Fa. Riedel de Haen AG, Seelze b. Hannover.
Heparin Natrium USP XVII, verwendet: 20 mg/ml isot. Kochsalzlösung: Fa. Medac GmbH.
Kaliumdihydrogenphosphat nach Sörensen: Fa. E. Merck, Darmstadt.
Di-Natriumhydrogenphosphat-2-hydrat, p.a.: Fa. E. Merck, Darmstadt.
Lumasolve®: Fa. J.T. Baker Chemicals B.V., Deventer, Niederlande.
Isopropylalkohol, p.a.: Fa. E. Merck, Darmstadt.
Wasserstoffperoxid, p.a. (30%): Fa. E. Merck, Darmstadt.
Phenolrot: Fa. E. Merck, Darmstadt.
Natriumchlorid, p.a.: Fa. E. Merck, Darmstadt.
1 N Natronlauge, Titrisol®: Fa. E. Merck, Darmstadt.
Natriumcyclohexansulfamat (purum): Fa. Fluka AG, Buchs SG, Schweiz.
Tylose MH 300 (Methylcellulose mittelviskos 1), purum: Fa. Fluka AG, Buchs SG, Schweiz.
Tylose MH 1000 (Methylcellulose mittelviskos 2), purum: Fa. Fluka AG, Buchs SG, Schweiz.
Carboxymethylcellulose Natriumsalz, purum: Fa. Fluka AG, Buchs SG, Schweiz.
Gum Guar[1]: Sigma Chemical Company, St.Louis, Mo., USA.
Polyethylenglykol 35000, p.s.: Fa. Merck-Schuchardt, Hohenbrunn bei München.
Alginsäure Natriumsalz, purum: Fa. Carl Roth, Karlsruhe.
Polyvinylpyrrolidon (MG 25000 - 30000): Fa. E. Merck, Darmstadt.
PPO (2,5 Diphenyloxazol), Scintillation grade: Fa. Packard, Downers Grove, Ill., USA.
Dimethyl-POPOP, Scintillation grade: Fa. Packard, Downers Grove, Ill., USA.
Ethanol absolut, vergällt: Universitätsapotheke, Tübingen.
Toluol redestilliert: Aral AG.
Lumagel®: Fa. J.T. Baker Chemicals B.V., Deventer, Niederlande.
1 N HCl, Titrisol®: Fa. E. Merck, Darmstadt.
Antipyrin (cryst., Ph. Helv. VI): Fa. Fluka AG, Buchs SG, Schweiz.
[N-Methyl-^{14}C] antipyrine, batch 9, 1,89 GBq/mmol: Radiochemical Centre, Amersham, GB.
Benzoesäure, p.a.: Fa. E. Merck, Darmstadt.
[Carboxyl-^{14}C] benzoic acid, batch 30, 2,14 GBq/mmol:

Radiochemical Centre, Amersham, GB.
Benzylamin 99%: EGA-Chemie, Steinheim.
(7-^{14}C) benzylamine hydrochloride, batch 10, 2,21 GBq/mmol:
Radiochemical Centre, Amersham, GB.
Harnstoff (für biochemische Zwecke): Fa. E. Merck, Darmstadt.
[^{14}C] urea, batch 56, 2,01 GBq/mmol: Radiochemical Centre,
Amersham, GB.
α-Methyl-D-Glucosid, puriss.: Fa. Fluka AG, Buchs SG, Schweiz.
methyl(α-D-[U-^{14}C]gluco)pyranoside, batch 23, 10,32 GBq/mmol:
Radiochemical Centre, Amersham, GB.
Dialysiermembranen, visking seamless cellulose tubing 27/32
(Ausschlußgrenze MG = 12000): Fa. Bachofer, Reutlingen.
Kolloidosmometermembranen: Fa. Knauer, Berlin.

1) Guar wurde vor der Verwendung in den Perfusions- und Injektionslösungen folgendermaßen aufgearbeitet: Lösung in Wasser; Zentrifugation mit 1000 Upm, nach der sich ein Sediment zeigte; Dekantieren des Überstands; erneute Zentrifugation mit anschließender Filtration des Überstands; Gefriertrocknung.

4. Lösungen

4.1. Natrium-Kalium-Phosphatpuffer

Zu 1000 ml der Kaliumphosphatlösung (9,073 g KH_2PO_4 in 1 Liter) wurden 984 ml der Natriumphosphatstammlösung (11,87 g $Na_2HPO_4 \times 2\ H_2O$ in 1 Liter) zugefügt. Die 1/15 molare Pufferlösung hat bei 37 °C einen pH-Wert von 6,84; Geigy-Tafeln, S.275 (36).

4.2. Pufferlösung 1

15 ml des Natrium-Kalium-Phosphatpuffers wurden erwärmt und darin 10 mg Phenolrot gelöst. Nach Zugabe von 875,6 mg NaCl und 150 mg Urethan wurde mit abgekochtem Aqua dem. auf 100,0 ml aufgefüllt.

4.3. Pufferlösung 2

800 mg NaCHS, 640 mg NaCl und 150 mg Urethan wurden in 15,0 ml Natrium-Kalium-Phosphatpuffer gelöst und mit Aqua dem. auf 100,0 ml aufgefüllt.

4.4. Viskose Injektionslösungen

Die Injektionslösungen hatten folgende Zusammensetzung:

bei Zugabe von:

a.MC MH 300 (0 - 17,5 g/l)			
b.MC MH 1000 (12,3 g/l)	NaCHS	8,0	mg/ml
	NaCl	6,4	"
	Urethan	1,5	"
	N-K-Puffer	0,15	ml/ml

Bei Zugabe von 13,7 g/l CMC-Na, 4,4 g/l Guar und 11,8 g/l Na-Alginat wurde der NaCHS-Gehaltes geändert (bei sonst gleicher Zusammensetzung des Puffers):

c.CMC-Na	NaCHS	3,18	mg/ml
d.Guar	NaCHS	6,93	mg/ml
e.Na-Alginat	NaCHS	5,32	mg/ml

Bei den hochkonzentrierten Lösungen von PEG 35000 (100,0 g/l) und PVP (120,0 g/l) wurde Cyclohexansulfamat-Na weggelassen und zusätzlich der Natriumchloridgehalt geändert (Menge von Urethan und N-K-Puffer unverändert):

f.PEG 35000	NaCl	4,09	mg/ml
g.PVP	NaCl	5,32	mg/ml

4.5. Szintillationsmischung

10 g PPO und 125 mg Dimethyl-POPOP wurden in 2000 ml Ethanol absolut gelöst und mit 3000 ml Toluol versetzt.

4.6. Lumasolve®-Isopropanol

500 ml Lumasolve®-100 wurden mit 500 ml Isopropylalkohol vermischt.

4.7. Lumagel®-HCl

500 ml 0,5 molare HCl wurden zu 4500 Lumagel® gegeben.

5. Geräte

Laborzentrifuge, Universal Junior III E: Fa. Heraeus-Christ GmbH, Osterode/Harz.
Flüssigkeitsszintillationszähler, Isocap 300: Fa. Nuclear Chicago, Des Plaines, Ill., USA.
Spektrofotometer, PMQ II: Fa. Carl Zeiss, Oberkochen.
Wärmeschrank: Fa. Memmert KG, Schwabach.
Magnetrührer IKA-Combimag RCH: Fa. Janke und Kunkel AG, Staufen/Br.
Ultra-Turrax: Fa. Janke und Kunkel AG, Staufen/Br.
Kapillarviskosimeter nach Cannon-Fenske Nr.50, 100, 150, 200, 300, 400 und 500: Fa. Schott, Mainz.
Rotationsviskosimeter, Modell LVT: Fa. Brookfield, Stoughton; Ma., USA.
Kolloid-Osmometer: Fa. Knauer, Berlin.
Halbmikroosmometer: Fa. Knauer, Berlin.
Beatmungsgerät: Feinmechanische Werkstatt des Pharmakologischen Inst. der Universität Tübingen.
Colora Ultra Thermostat K 5: Fa. Colora Meßtechnik GmbH, Lorch/Württ.
Mikropumpe mp 1 (zur Blutinfusion): Fa. Bühler, Tübingen.
Tropfenzähler "Thorp Impulse Counter": Fa. Palmer, London, England.
Rußkymograph: Fa. Palmer, London, England.
Zeitgeber: Fa. Palmer, London, England.
Dauerinfusionsgeräte, Typ Perfusor IV und Perfusor V: Fa. Braun, Melsungen.
Quecksilbermanometer.
Tierwaage, Typ PL 3000: Fa. Mettler GmbH, Gießen.
Analysenwaage: Fa. Sauter GmbH, Albstadt-Ebingen.
Halbautomatisches Dosiergerät, Dispensette: Fa. Brand GmbH + Co, Wertheim-Glashütte.
Wasserbad für Diffusionsmessungen: Feinmechanische Werkstatt des Pharmakologischen Inst. der Universität Tübingen.
Colora Thermostat E PS: Fa. Colora Meßtechnik GmbH, Lorch/Württ.

Gleichgewichtsdialyseapparatur DIANORM: Fa. Bachofer, Reutlingen.
Kleinzentrifuge "Doctor": Fa. Wifug, Stockholm, Schweden.
Gefriertrocknungsanlage, Typ Alpha: Fa. Christ, Osterode/Harz.

LITERATURVERZEICHNIS

1. Amidon, G.L., Kou, J., Elliott, R.L., Lightfoot, E.N.: Analysis of models determining intestinal wall permeabilities. J. Pharm. Sci. 69, 1369-1373 (1980).

2. Anderson, J.S., Saddington, K.: The use of radioactive isotopes in the study of the diffusion of ions in solution. J. Chem. Soc., 381-386 (1949).

3. Arancibia, A., Parra, A., Lopez, A.: Effect of polyelectrolytes on the absorption of salicylic acid from the rat intestine. Res. Com. Chem. Path. et Pharm. 33, 353-356 (1981).

4. Barry, P.H., Diamond, J.M.: Effects of unstirred layers on membrane phenomena. Physiol. Rev. 64, 763-872 (1984).

5. Blackburn, N.A., Jarjis, H., Read, N.W.: How does guar gum improve glucose tolerance in man? Gut 24, A991 (1983).

6. Blackburn, N.A., Holgate, M.A., Read, N.W.: Does guar gum improve post-prandial hyperglycaemia in humans by reducing small intestinal contact area? Brit. J. of Nutr. 52, 197-204 (1984).

7. Blackburn, N.A., Johnson, I.T.: The effect of guar gum on the viscosity of the gastrointestinal contents and on glucose uptake from the perfused jejunum in the rat. Brit. J. of Nutr. 46, 239-246 (1981).

8. Blackburn, N.A., Johnson, I.T.: The influence of guar gum on the movements of inulin, glucose and fluid in the rat intestine during perfusion in vivo. Pflügers Arch. 397, 144-148 (1983).

9. Blackburn, N.A., Redfern, J.S., Johnson, I.T., Read, N.W.: Guar gum reduces postprandial glycaemia in man without affecting gastric emptying or unstirred layer thickness. Gastroenterology 84, 1108 (1983).

10. Bondy, D.C., Bate, L.R.: Jejunal pore size and intraluminal pressure. Clin. Res. 19, 777 (1971).

11. Brown, R.C., Kelleher, J., Walker, B.E., Losowsky, M.S.: Dietary fibre and drug absorption: The effect of pectin and bran on paracetamol absorption in rats. Gut 18, 946 (1977).

12. Caspary, W.F., Elsenhans, B., Süfke, U., Ptok, M., Blume, R., Lembcke, B., Creutzfeldt, W.:
Effect of dietary fibre on absorption and motility. Front. Horm. Res. 7, 202-217 (1980).

13. Caspary, W.F.: Diabetes mellitus: Verzögerung der Kohlenhydrat-resorption als therapeutisches Prinzip. Deutsches Ärzteblatt 82, 1413-1423 (1985).

14. Chang, M.L.W., Li, B.W.: Effect of gel-forming undigestible polysaccharides versus cellulose on intestinal sugar concentrations and serum glucose level in rat. Nutr. Rep. Int. 30, 789-796 (1984).

15. Condon, M.E.: A modification of the conventional mercury manometer for blood-pressure recordings. Brit. J. Pharmacol. 6, 19-20 (1951).

16. Crank,J.: The mathematics of diffusion. S.62,73, Clarendon Press, Oxford (1964).

17. Dainty, J., House, C.R.:"Unstirred layers"in frog skin. J. Physiol. 182, 66-78 (1966).

18. Daniel, H., Neugebauer, B., Kratz, A., Rehner, G.: Localization of acid microclimate along intestinal villi of rat jejunum. Am. J. Physiol. 248, 293-298 (1985).

19. Daniel, C., Wood, F.S.: Fitting equations to data. Wiley-interscience, J. Wiley and sons, Inc. (1971).

20. Daumerie, C., Henquin, J.C.: Acute effects of guar gum on glucose tolerance and intestinal absorption of nutrients in rats. Diabète et Metabolisme 8, 1-5 (1982).

21. Debnam, E.S., Levin, R.J.: Effects of fasting and semi-starvation on the kinetics of active and passive sugar absorption across the small intestine in vivo. J. Physiol. 252, 681-700 (1975).

22. Dennhardt, R.Haberich, F.J.: Influence de la pression intraintestinale et de l'adiuretine [ADH] sur l'absorption de l'eau et de ClNa, etudiee par une methode de la perfusion intestinale chez le rat eveille. J. Physiol. Paris 61, 262 (1969).

23. Dennhardt, R., Haberich, F.J.: Resorptions- und Sekretionsstudien am Darm: V. Einfluß des intraluminalen Drucks auf die Wasserresorption am Dünndarm wacher Ratten. Z. ges. exp. Med. 156, 151-156 (1971).

24. Duffy, P.A., Granger, D.N., Taylor, A.E.: Intestinal secretion induced by volume expansion in the dog. Gastroenterology 75, 413-418 (1978).

25. Einstein, A.: Über die von der molekularkinetischen Theorie der Wärme geforderte Bewegung von in ruhenden Flüssigkeiten suspendierten Teilchen. Ann. der Physik 17, 549-560 (1905).

26. Elsenhans, B., Blume, R., Caspary, W.F.: Long term feeding of unavailable carbohydrate gelling agents. Influence of dietary concentration and microbiological degradation on adaptive responses in the rat. Am. J. Clin. Nutr. 34, 1837-1848, (1981).

27. Elsenhans, B., Süfke, U., Blume, R., Caspary, W.F.: The influence of carbohydrate gelling agents on rat intestinal transport of monosaccharides and neutral amino acids in vitro. Clin. Sci. 59, 373-380 (1980).

28. Elsenhans, B., Süfke, U., Blume, R., Caspary, W.F.: In vitro inhibition of rat intestinal surface hydrolysis of disaccharides and dipeptides by guaran. Digestion 21, 98-103 (1981).

29. Elsenhans, B., Zenker, D., Caspary, W.F., Blume, R.: Guaran effect on rat intestinal absorption. A perfusion study. Gastroenterology 86, 645-653 (1984).

30. Farng, K.F., Nelson, K.G.: Effects of polyelectrolytes on drug transport I: Diffusion. J. Pharm. Sci. 62, 1435-1438 (1973).

31. Farng, K.F., Nelson, K.G.: Effects of polyelectrolytes on drug transport II: Permeation. J. Pharm Sci. 66, 1611-1614 (1977).

32. Flourie, B., Vidon, N., Florent, C., Bernier, J.J.: Effect of pectin on jejunal glucose absorption and unstirred layer thickness in normal man. Gut 25, 936-941 (1984).

33. Förster, H., Hoos, I.: Tierexperimentelle Untersuchungen zum Einfluß von pflanzlichen Hydrokolloiden (Quellstoffen) auf die intestinale Resorption. Z. Ernährungswiss. 16, 140-149 (1977).

34. Gassull, M.A., Goff, D.V., Haisman, P., Hockaday, T.D.R., Jenkins, D.J.A., Jones, K., Leeds, A.R., Wolever, T.M.S.: The effect of unavailable carbohydrate gelling agents in reducing the post-prandial glycaemia in normal volunteers and diabetics. J. Physiol. 259, 52-53 (1976).

35. Gee, J.M., Blackburn, N.A., Johnson, I.T.: The influence of guar gum on the cholesterol transport in the rat. Brit. J. Nutr. 50, 215-224 (1983).

36. Geigy: Documenta Geigy: Wissenschaftliche Tabellen, 6. Auflage, Basel: J.R. Geigy (1960).

37. Gosting, L.J., Akeley, D.F.: A study of the diffusion of urea in water at 25° with the Gouy interference method. J. Am. Chem. Soc. 74, 2058-2060 (1952).

38. Handbook of chemistry and physics: 57th edition, CRC - Press, Cleveland, USA (1976/77).

39. Hansen, W.E.: Wirkungen der Ballaststoffe am oberen Intestinaltrakt. Klin. Wochenschr. 60, 1475-1483 (1982).

40. Hartley, H.O.: The modified Gauss-Newton method for the fitting of non-linear regression functions by least squares. Technometrics 3, 269-280 (1961).

41. Hewitt, R.A., Levy, G.: Effect of viscosity on thiamine and riboflavin absorption in man. J. Pharm. Sci. 60, 784-786 (1971).

42. Higuchi, T., Kusamoto, R., Kennon, L., Flannagan, T.L., Polk, A.: Possible utilization of polyelectrolytes in enhancing drug absorption. J. Am. pharm. Ass. Sci. Ed. 43, 646-651 (1954).

43. Holt, S., Heading, R.C., Carter, D.C., Prescott, L.F., Tothill, P.: Effect of gel fibre on gastric emptying and absorption of glucose and paracetamol. Lancet, 636-639 (1979).

44. Högerle, M.L., Winne, D.: Drug absorption by the rat jejunum perfused in situ. Dissociation from the pH-partition theory and role of microclimate-pH and unstirred layer. Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 322, 249-255 (1983).

45. Humphreys, M.H., Earley, L.E.: The mechanism of decreased intestinal sodium and water absorption after acute volume expansion in the rat. J. Clin. Invest. 50, 2355-2367 (1971).

46. Huth, K., Moor, D., Bräuning, C., Vollmar, J.: Glucoseabsorption bei Gabe von Guarmehl. Akt. Ernähr. 8, 12-14 (1983).

47. Jenkins, D.J.A., Goff, D.V., Leeds, A.R., Alberti, K.G.M.M., Wolever, T.M.S., Gassull, M.A., Hockaday, T.D.R.: Unabsorbable carbohydrates and diabetes: decreased postprandial hyperglycaemia. Lancet, 172-174 (1976).

48. Jenkins, D.J.A., Leeds, A.R., Gassull, M.A., Goff, D.V., Wolever, T.M.S., Alberti, K.G.M.M.: Viscosity and the action of unavailable carbohydrate in reducing the postprandial glucose and insulin levels. Proc. Nutr. Soc. 36, 44 (1977).

49. Jenkins, D.J.A., Leeds, A.R., Gassull, M.A., Cochet, B., Alberti, K.G.M.M.: Decrease in postprandial insulin and glucose concentrations by guar and pectin. Ann. intern. Med. 86, 20-23 (1977).

50. Jenkins, D.J.A., Wolever, T.M.S., Leeds, A.R., Gassull, M.A., Haisman, P., Dilawari, J., Goff, D.V., Metz, G.L., Alberti, K.G.M.M.: Dietary fibres, fibre analogues, and glucose tolerance: importance of viscosity. Brit. Med. J. 1, 1392-1394 (1978).

51. Jenkins, D.J.A., Wolever, T.M.S., Nineham, R., Sarson, D.L., Bloom, S.R., Ahearn, J., Alberti, K.G.M.M., Hockaday, T.D.R.: Improved glucose tolerance four hours after taking guar with glucose. Diabetologica 19, 21-24 (1980).

52. Johnson, I.T., Gee, J.M.: Inhibitory effect of guar gum on the intestinal absorption of glucose in vitro. Proc. Nutr. Soc. 39, 52 (1980).

53. Johnson, I.T., Gee, J.M.: Effect of gel-forming gums on the intestinal unstirred layer and sugar transport in vitro. Gut 22, 398-403 (1981).

54. Johnson, I.T., Gee, J.M.: Influence of viscous incubation media on the resistance to diffusion of the intestinal unstirred water layer in vitro. Pflügers Arch. 393, 139-143 (1982).

55. Johnson, I.T., Gee, J.M.: Viscous components of dietary fibre; effect on intestinal unstirred layer, gut-content viscosity, and glucose uptake in the rat. Gastroenterol. Clin. Biol. 6, 99 (1982).

56. Kasper, H., Schrezenmeir, J.: The effect of dietary fibre on D-Xylose absorption. Human Nutr.: Clin. Nutr. 36, 243-250, (1982).

57. Kirk, R.E.: Procedures for behavioral sciences. Brooks/Cole Publishing Company, Belmont, CA, USA (1970).

58. Lauffer, M.A.: Theory of diffusion in gels. Biophys. J. 1, 205-213 (1961).

59. Lee, J.S.: Effects of stretching and stirring on water and glucose absorption by canine mucosal membrane. J.Physiol. 335, 335-341, (1983).

60. Leeds, A.R., Bolster, N.R., Andrews, R., Truswell, A.S.: Meal viscosity, gastric emptying and glucose absorption in the rat. Proc. Nutr. Soc. 38, 44 (1979).

61. Leeds, A.R., Gassull, M.A., Metz, G.L., Jenkins, D.J.A.: Food: influence of form on absorption. Lancet, 1213, (1975).

62. Lembcke, B., Ebert, R., Ptok, M., Caspary, W.F., Creutzfeldt, W., Schicha, H., Emrich, D.: Role of gastrointestinal transit in the delay of absorption of viscous fibre (guar). Hepato-gastroenterol. 31, 183 186 (1984).

63. Lembcke, B., Häsler, K., Kramer, P., Caspary, W.F., Creutzfeldt, W.: Digoxin-Bioverfügbarkeit unter dem Einfluß von Guar. Beitr. Infusionsther. klin. Ernähr. 12, 48-54 (1983).

64. Levy, G., Jusko, W.J.: Effect of viscosity on drug absorption. J. Pharmaceut. Sci. 54, 219-225 (1965).

65. Levy, G., Rao, B.K.: Enhanced intestinal absorption of riboflavin from sodium alginate solution in man. J. Pharmaceut. Sci. 61, 279-280 (1972).

66. Lienert, G.A.: Verteilungsfreie Methoden in der Biostatistik. 2. Auflage, Bd. 2, S. 5, Hain-Verlag, Meisenheim (1978).

67. Lucas, M.L.: In vivo demonstration of low pH at the surface of rat proximal jejunum. J. Physiol. 329, 10 (1982).

68. Mackie, J.S., Meares, P.: The diffusion of electrolytes in a cation-exchange resin membrane. I.Theoretical. Proc. R. Soc. 232, 498-509 (1955).

69. Mailman, D., Jordan, D.: The effect of saline and hyperoncotic dextran infusion on canine ileal salt and water absorption and regional blood flow. J. Physiol. 252, 97-113 (1975).

70. Mirkovitch, V., Menge, H., Robinson, J.W.L.: The effect of intraluminal hydrostatic pressure on intestinal absorption in vivo. Separatum Exp. 30, 912 (1974).

71. Morgan, L.M., Goulder, T.A., Tsiolakis, D., Marks, V., Alberti, K.G.M.M.: The effect of unabsorbable carbohydrate on gut hormones. Diabetologica 17, 85-89 (1979).

72. Nakayama, F.S., Jackson, R.D.: Diffusion of tritiated water ($^{3}H^{1}H^{16}O$) in agar gel and water. J. Physical Chem. 67, 932-933 (1963).

73. Nishijima, Y., Oster, G.: Diffusion in concentrated polymer solutions. I.A. An interferometric micromethod for diffusion measurements B. Diffusion of sucrose in solutions of polyvinylpyrrolidon. J. Polymer Sci. XIX, 337-346 (1956).

74. Ochsenfahrt, H.: The mucosal-serosal transfer of drugs in the rat jejunum with and without blood flow. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 270 (Suppl.), 102 (1971).

75. Rabinovitch, J.: Factors influencing the absorption of water and chlorides from the intestine. Am. J. Physiol. 82, 279-289 (1927).

76. Read, N.W., Levin, R.J., Holdsworth, C.D.: Electrogenic glucose absorption in untreated and treated coeliac disease. Gut 17, 444-449 (1976).

77. Read, N.W., Barber, D.C., Levin, R.J., Holdsworth, C.D.: Unstirred layer and kinetics of electrogenic glucose absorption in the human jejunum in situ. Gut 18, 865-876 (1977).

78. Rhee, M., Pittz, E.P., Abraham, R.: Effect of combinations of irideae carrageenan and cellulose on the absorption of some nutrients from the alimentary tract of the rat. Ecotoxicol. Environm. Safety 5, 1-14 (1981).

79. Rydning, A., Berstad, A., Berstad, T., Hertzenberg, L.: Effect of guar gum and fiber enriched wheat bran on gastric emptying of a semisolid meal in healthy subjects. Scand. J. Gastroenterol. 20, 330-334 (1985).

80. Sachs, L.: Statistische Auswertungsmethoden, Springer-Verlag, 3. Aufl., (1971).

81. Schantz, E.J., Lauffer, M.A.: Diffusion measurement in agar gel. Biochemistry 1, 658-663 (1962).

82. Schwartz, S.E., Levine, G.D.: Effects of dietary fibre on intestinal glucose absorption and glucose tolerance in rats. Gastroenterology 79, 833-836 (1980).

83. Seager, H.: The effect of methylcellulose on the absorption of nitrofurantoin from the gastrointestinal tract. J. Phar. Pharmacol. 20, 968-969 (1968).

84. Shima, K., Tanaka, A., Ikegami, H., Tabata, M., Sawazaki, N., Kumahara, Y.: Effect of dietary fibre, Glucomannan, on the absorption of sulfonylurea in man. Horm. Metabol. Res. 15, 1-3 (1983).

85. Sigleo, S., Jackson, M.J., Vahouny, G.V.: Effects of dietary fibre constituents on intestinal morphology and nutrient transport. Am. J. Physiol. 246, 34-39 (1984).

86. Simon, W.: Mathematical techniques for biology and medicine. MIT Press, London (1977).

87. Soci, M.M., Parrott, E.L.: Influence of viscosity on absorption from nitrofurantoin suspensions. J. Pharm. Sci. 69, 403-406 (1980).

88. Soergel, K.H.: Inert markers. Gastroenterology 54, 449-452 (1968).

89. Spector, W.S.: Handbook of biological data, S.51. Philadelphia-London: W.B. Saunders Comp. (1956).

90. Swabb, E.A., Hynes, R.A., Marnane, W.G., McNeil, J.S., Decker, R.A., Tai, Y.-H., Donowitz, M.: Intestinal filtration-secretion due to increased intraluminal pressure in rabbits. Am. J. Physiol. 242, 65-75 (1982).

91. Swabb, E.A., Hynes, R.A., Donowitz, M.: Elevated intraluminal pressure alters rabbit small intestinal transport in vivo. Am. J. Physiol. 242, 58-64 (1982).

92. Thomson, A.B.R., Dietschy, J.M.: Derivation of the equations that describe the effects of unstirred water layers on the kinetic parameters of active transport processes in the intestine. J. Theor. Biol. 64, 277-294 (1977).

93. Vogel, G., Stöckert, I.: Flüssigkeits- und Substanzbewegungen durch die Mukosa verschiedener Abschnitte des Darms von Ratten bei Angebot isotoner und hypertoner Lösungen von Natriumcyclohexansulfamat - einem Na-Salz geringer Penetrabilität. Pflügers Arch. 301, 76-90 (1968).

94. Wahlqvist, M.L., Morris, M.J., Littlejohn, G.O., Bond, A., Jackson, R.J.V.: The effect of dietary fibre on glucose tolerance in healthy males. Aust. N.Z. J. Med. 9, 154-158 (1979).

95. Wang, J.H.: Self-Diffusion and structure of liquid water. I. Measurement of self-diffusion of liquid water with deuterium as tracer. J. Am. Chem. Soc. 73, 510-513 (1951).

96. Wang, J.H.: Theory of the self-diffusion of water in protein solutions. A new method for studying the hydratation and shape of protein molecules. J. Am. Chem. Soc. 76, 4755-4763 (1954).

97. Weber, E.: Grundriss der biologischen Statistik. Gustav Fischer-Verlag, Stuttgart (1980).

98. Wells, H.S.: The balance of physical forces which determine the rate and direction of fluid through the intestinal mucosa. Am. J. Physiol. 130 - 131, 410-419 (1940/1941).

99. Wilson, T.H., Landau, B.R.: Specifity of sugar transport by the intestine of the hamster. Am. J. Physiol. 198, 99-102 (1960).

100. Winne, D.: A discrepancy between the accumulation of L-phenylalanine in the intestinal wall and the appearance rate in the blood. Febs Letters 27, 94-96 (1972).

101. Winne, D.: Unstirred layer, source of biased Michaelis constant in membrane transport. Biochim. Biophys. Acta 298, 27-31 (1973).

102. Winne, D.: Unstirred layer thickness in perfused rat jejunum in vivo. Sep. Exper. 32, 1278-1279 (1976).

103. Winne, D.: The influence of unstirred layers on intestinal absorption. Exerpta Med. Int. Congr. Series 391, 58-64 (1977).

104. Winne, D.: The permeability coefficient of the wall of a villous membrane. J. Math. Biol. 6, 95-108 (1978).

105. Winne, D.: Dependance of intestinal absorption in vivo on the unstirred layer. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 304, 175-181 (1978).

106. Winne, D.: Rat jejunum perfused in situ: Effect of perfusion rate and intraluminal radius on absorption rate and effective unstirred layer thickness. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 307, 265-274 (1979).

107. Winne, D.: Unstirred layer as a diffusion barrier in vitro and in vivo. In: Intestinal absorption and secretion (Skadhauge, E., Heintze, K., eds.), S.21-38, MTP - Press, London (1984).

108. Winne, D., Görig, H.: Appearance of ^{14}C-polyethylene glycol 4000 in intestinal venous blood: Influence of osmolarity and laxatives, Effect on net water flux determination. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 321, 149-156 (1982).

109. Winne, D., Görig, H., Müller, U.: In vivo studies of mucosal-serosal tranfer in rat jejunum. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 329, 70-76 (1985).

110. Winne, D., Kopf, S., Ulmer, M.L.: Role of unstirred layer in intestinal absorption of phenylalanine in vivo. Biochim. Biophys. Acta 550, 120-130 (1979).

111. Wolever, T.M.S., Jenkins, D.J.A., Leeds, A.R., Gassull, M.A., Dilawari, J.B., Goff, D.V., Metz, G.L., Alberti, K.G.M.M.: Dietary fibre and glucose tolerance: importance of viscosity. Proc. Nutr. Soc. 37, 47 (1978).

112. Yamaoka, K., Nakagawa, T., Uno, T.: Application of Akaike's information criterion (AIC) in the evaluation of linear pharmacokinetic equation. J. Pharmacokin. Biopharm. 6, 165-175 (1978).

ZUSAMMENFASSUNG

Mit den vorgelegten Untersuchungen sollte überprüft werden, welchen Einfluß eine Vergrößerung des präepithelialen Diffusionswiderstandes durch Zusatz von viskositätserhöhenden Polymeren auf die Resorption im Jejunum der Ratte besitzt.

Bei narkotisierten, männlichen Ratten wurde ein Jejunumsegment in situ perfundiert und die Erscheinensrate von Antipyrin im Darmvenenblut bei steigenden Methylcellulosekonzentrationen in der Perfusionslösung (bis 17,5 g/l, Viskosität 98 cSt) gemessen. Trotz einer Verminderung der Diffusionsgeschwindigkeit von Antipyrin in den viskosen Lösungen um maximal 28 % wurde ein Anstieg der Erscheinensrate um maximal 22 % beobachtet. Dieser Effekt ist eindeutig auf eine Vergrößerung der resorbierenden Fläche zurückzuführen, da mit zunehmender Viskosität der Perfusionslösung der intraluminale Druck um maximal 18 mm Flüssigkeitssäule anstieg und die Darmwand dehnte. Aus dem Umfang und der Länge (in situ gemessen) des Jejunumsegmentes wurde eine Vergrößerung des intraluminalen Radius und der inneren Oberfläche um 16 % errechnet. Die gleichen Auswirkungen auf die Erscheinensrate von Antipyrin im Darmvenenblut hatte eine direkte Erhöhung des intraluminalen hydrostatischen Druckes durch Anheben der Auslaufkanüle; bei Anhebung um 8 cm resultierte eine Vergrößerung der Fläche und der Erscheinensrate um 80 %. In beiden Versuchsserien stieg die Resorptionsrate proportional zur Größe der resorbierenden Schleimhautoberfläche an.

Eine Vorperfusion mit substratfreier Guarlösung verzögerte den Anstieg der Erscheinensrate von Antipyrin und α-Methyl-D-Glucosid um 30 bzw. 50 % bei der anschließenden Perfusion mit guarfreier, substrathaltiger Pufferlösung. Die Resorptionsrate nach Erreichen des Fließgleichgewichts wurde durch die Vorperfusion mit viskoser Lösung nicht geändert. Eine Erhöhung des präepithelialen Diffusionswiderstandes durch Aufbringen einer viskösen Grenzschicht auf die Darmschleimhaut hat somit eine Verzögerung der Resorption zur Folge.

Um hydrodynamische Einflüsse weitgehend auszuschließen, wurden die weiteren Versuche mit der Technik der "abgebundenen Darmschlinge" untersucht. Die Resorption der gut permeablen Substanzen Antipyrin, Benzoesäure und α-Methyl-D-Glucosid wurde durch den Zusatz von Guar, Carboxymethylcellulose-Na und Methylcellulose MH 300 (Viskosität etwa 100 cSt) um 10 - 20 % vermindert, entsprechend der Reduktion der

Diffusionskonstanten um 5 - 20 %. Dagegen blieb die Resorption der weniger gut permeablen Substrate Harnstoff und Benzylamin unverändert, trotz Abnahme der Diffusionskonstanten um 5 - 9 %. Bei den erstgenannten Substraten ist in der abgebundenen Darmschlinge der geschwindigkeitsbestimmende Schritt der Resorption die präepitheliale Diffusion, so daß eine Verringerung der Diffusionskonstante durch einen Polymerzusatz die Resorption etwa in gleicher Größe verminderte. Bei den anderen Substraten ist die Permeation durch das Epithel der wesentliche Schritt, so daß eine Änderung der intraluminalen Diffusion kaum eine Auswirkung auf die Resorptionsrate hat.

Die begleitenden Untersuchungen ergaben folgende Ergebnisse: Die Diffusionskonstante von Antipyrin nahm mit Erhöhung der Methylcellulosekonzentration linear ab, während die Viskosität der Lösung exponentiell anstieg. Der kolloidosmotische Druck der Hydrogelbildner überstieg in den angewendeten Konzentrationen nie den entsprechenden Druck des Rattenplasmas. Die Gleichgewichtsdialyse ergab eine höhere Konzentration von Benzylamin und eine niedrigere von Benzoesäure in einer Carboxymethylcelluloselösung. Diese intermolekulare Wechselwirkung hatte keine erkennbare Auswirkung auf die intestinale Resorption.

Der Zusatz von viskositätserhöhenden Substanzen vergrößert den präepithelialen Diffusionswiderstand durch Verminderung der Diffusionskonstante und je nach Versuchsanordnung auch durch Verlängerung des Diffusionsweges , die intestinale Resorption wird so reduziert oder verzögert. Dieser Effekt ist am ehesten bei gut permeablen Substanzen zu erwarten, deren intestinale Resorptionsgeschwindigkeit im wesentlichen durch die präepitheliale Diffusion bestimmt wird. Wenn viskose Lösungen über hydrodynamische Mechanismen die Darmwand dehnen, kann die Vergrößerung der resorbierenden Oberfläche eine stärkere Auswirkung auf die Resorption haben als die Erhöhung des intraluminalen Diffusionswiderstandes, so daß eine Resorptionserhöhung resultiert.

Ganz herzlich danken möchte ich

Herrn Prof. Dr. med. D. Winne für die Überlassung des Themas, insbesondere aber für die tatkräftige und freundliche Unterstützung bei der Durchführung sowie die großzügige Förderung der Arbeit;

Frau U. Müller für die sehr sorgfältige Anfertigung der Zeichnungen und Photographien.

Die deutsche Forschungsgemeinschaft unterstützte die Arbeit mit einer Sachbeihilfe (Wi 214/10 -1). Ein Teil der Rechenoperationen wurde im Zentrum für Datenverarbeitung der Universität Tübingen durchgeführt.

LEBENSLAUF

2. Juli 1955	in Mettmann/NRW geboren, Sohn des Günter Holzheimer und seiner Ehefrau Elisabeth, geb. Weber
Ostern 1962	Einschulung in die Johannesschule, Erkrath
Ostern 1966	Aufnahme in die 1. Klasse des Städtischen neusprachlichen Jungengymnasiums mit naturwissenschaftlichem Zweig, Düsseldorf-Gerresheim
11. Juni 1974	Abitur
Juli 1974 - September 1975	Wehrdienst in Wuppertal
Oktober 1975 - Juli 1976	Studium der Chemie und Anglistik für das Lehramt an Gymnasien an der Universität Düsseldorf
Oktober 1976 - Februar 1980	Studium der Pharmazie an der Universität Düsseldorf
25. April 1980	Zweiter Abschnitt der Pharmazeutischen Prüfung
Juni 1980 - Mai 1981	Praktikantenzeit in der Suso-Apotheke, Konstanz
22. Juni 1981	Dritter Abschnitt der Pharmazeutischen Prüfung
26. Juni 1981	Heirat: Beatrice, geb. Zöllig, Primarlehrerin
seit August 1981	wissenschaftlicher Angestellter am Pharmakologischen Institut der Universität Tübingen
14. November 1981	Geburt der Tochter Kerstin
August 1981 - Juli 1985	Anfertigung einer Dissertation zum Thema: "Der Einfluß von viskositätserhöhenden Substanzen auf den präepithelialen Diffusionswiderstand und die Resorption im Jejunum der Ratte in situ" am Pharmakologischen Institut der Universität Tübingen bei Prof. Dr. med. D. Winne

Meine akademischen Lehrer waren:
D. Mootz, W. Kuchen, L. Birkofer, J. van Calker, H.R. Kleinhanss, H.Möhrle, H. Weber, G. Willuhn, B.C. Lippold, I. Müller, K. Greeff, E. Noack, H.G. Goslar, P. Naumann, F.A. Gries, H.W. Schlipköter, M. Siess, D. Winne